

УДК 547.324.42

## РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ АЛЛО- И ИЗОАЛЛОКСАЗИНОВ

*В. М. Березовский, Л. С. Тульчинская и Н. А. Полякова*

Успехи химии алло- и изоаллоксазинов за последние 10—12 лет особенно ощутимо проявились в изучении реакционной способности. В обзоре рассматриваются реакции восстановления, окисления, нуклеофильного и электрофильного замещения, реакции внециклических аминогрупп, метильной группы в положении 8 флавинов и др. Реакционная способность алло- и изоаллоксазинов рассматривается с привлечением квантово-химических индексов.

Библиография — 245 наименований.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение . . . . .	1277
2. Таутомерные формы алло- и изоаллоксазина . . . . .	1278
3. Кисотно-основные свойства . . . . .	1280
4. Восстановление . . . . .	1281
5. Окисление . . . . .	1285
6. Нуклеофильное замещение . . . . .	1290
7. Электрофильное замещение в бензольном цикле . . . . .	1293
8. Алкилирование . . . . .	1296
9. Ацилирование . . . . .	1299
10. Реакции замещающих аминогрупп . . . . .	1300
11. Реакции метильной группы в положении 8 . . . . .	1302
12. Другие реакции . . . . .	1308

## 1. Введение

Алло- и изоаллоксазины — 2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидробензо[*g*]птеридины — гетероциклический ряд соединений, природные представители которого — рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>) и его коферменты — рибофлавин-5'-фосфат, флавиномононуклеотид (ФМН) и Р<sup>1</sup>-(рибофлавин-5')-Р<sup>2</sup>-(аденозин-5') дифосфат, флавинадениндинуклеотид (ФАБ) — в соединении со специфическим белком выполняют узловые функции переноса электронов в процессах метаболизма.

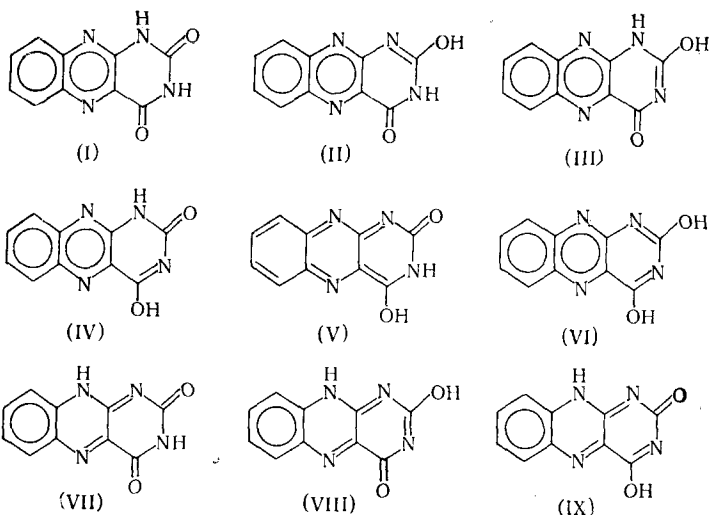
Однако длительный период со времени открытия рибофлавина (1932 г.), оказавшегося структурной основой кофакторов флавиновых окислительно-восстановительных ферментных систем, исследователи в основном изучали пути синтеза алло- и изоаллоксазинов и их аналогов<sup>1, 2</sup>, используя готовую флавиновую систему как платформу для раскрытия ее биологической сущности. И лишь в течение последних 10—12 лет показано все многообразие химических особенностей соединений алло- и изоаллоксазинового ряда. Так, изучены электронное строение и пространственная конфигурация молекулы рибофлавина и родственных соединений, реакционная способность циклических атомов азота, способность атомов углерода бензольного цикла к электрофильному замещению, окисление аллоксазинов в N-окиси, реакции внециклических аминогрупп, метильной группы в положении 8 молекулы флавина, фотохимические реакции, спектральные свойства молекул алло- и изоаллоксазинов и др.;

результаты изучения химических свойств интерпретированы в приложении к основной биохимической функции флавинов.

И только весь комплекс исследований реакционной способности и ее зависимости от  $\pi$ -электронных параметров молекул логически привел к установлению структуры нового флавинового кофактора сукцинатдегидрогеназы — фермента, катализирующего дегидрирование янтарной кислоты в фумаровую в главнейшем энергетическом метаболическом цикле трикарбоновых кислот (цикле Кребса) и нового флавинового кофактора другого фермента — моноаминоксидазы.

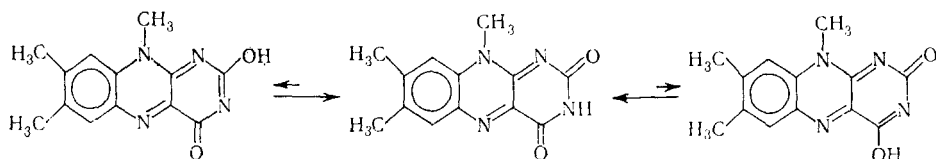
## 2. Таутомерные формы аллоксазина и изоаллоксазина

Для аллоксазина возможны шесть лактам-лактимных таутомерных форм (I—VI), изоаллоксазин в результате фиксированного замещения атома водорода в положении 10 алкильными заместителями дает три таутомерные формы (VII—IX):



Вопрос о таутомерной форме гетероциклических соединений часто решается путем сравнения их электронных спектров со спектрами модельных соединений, имеющих закрепленную структуру<sup>3</sup>. Однако из экспериментального изучения N- и O-алкилпроизводных флавинов<sup>4-6</sup> следует, что из-за незначительных различий спектров поглощения изучение лактам-лактимной таутомерии таких флавинов методом УФ-спектроскопии невозможно<sup>7</sup>. Расчет энергии перехода и силы осциллятора, проведенный методом ССП ППП для таутомерных форм (I—IX), также привел к заключению, что переход от лактамных форм к лактимным мало влияет на спектр поглощения<sup>8, 9</sup>.

O-Алкил-, S-метил- и дезоксипроизводные люмифлавина сильно отличаются от люмифлавина по своей основности: уже в разбавленной уксусной кислоте они полностью протонированы<sup>5</sup>. Эти соединения мало устойчивы и легко гидролизуются, а в присутствии слабых окислителей легко превращаются в люмифлавин. На этом основании сделан вывод о лактамной форме флавинов<sup>7</sup> и практическом отсутствии примеси иминоловых таутомерных форм<sup>7, 10</sup>, прототропное равновесие, по-видимому, полностью сдвинуто в сторону лактамной формы<sup>7</sup>:



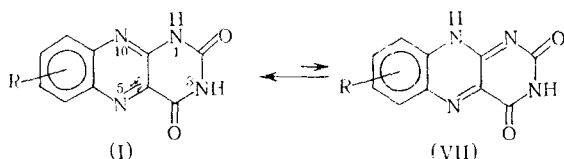
В результате рассмотрения ИК-спектров большого количества замещенных алло- и изоаллоксазинов и сравнения их со спектрами закрепленных структур установлено, что как алло-, так и изоаллоксазины в твердом состоянии также имеют лактамное строение<sup>11</sup>.

Путем сопоставления вычисленных значений энергий верхней связывающей и нижней разрыхляющей орбиталей для всех возможных таутомерных форм алло- и изоаллоксазина Нишимото показал<sup>9</sup>, что сродство диоксо-форм к электрону довольно велико и они могут являться хорошими окислителями. Высказано предположение, что в биологических системах изоаллоксазины способны таутомерно превращаться в енольные формы в результате образования водородных связей с протеинами и, таким образом, вести себя и как доноры и как акцепторы электронов в биохимических реакциях<sup>9</sup>.

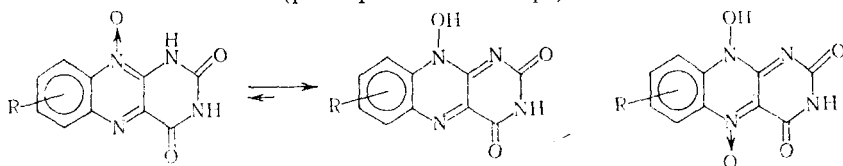
Следует отметить, что энергия  $\pi$ -электронов  $S_{(4)}$ -енольной формы (IX) на 4—5 эв больше, чем для  $S_{(2)}$ -енольной таутомерной формы (VIII), т. е. форма (IX) энергетически более выгодна<sup>12</sup>.

Березовский и Аксельрод изучали возможность алло- и изоаллоксазиновой таутомерии в ряду аллоксазинов<sup>13, 14</sup>, их 5-N-окисей<sup>15</sup>, 10-N-окисей<sup>13, 14</sup> и 5,10-ди-N-окисей<sup>15</sup>. Показано<sup>13, 14</sup>, что различие между структурами алло- и изоаллоксазинов, зависящее от хромофоров  $-N_5=C-$   $-C=N_{10}-$  (I) и  $-N_5=C-C=N_{11}-$  (VII), может быть с достаточной определенностью установлено в растворах методами УФ- и люминесцентной спектроскопии.

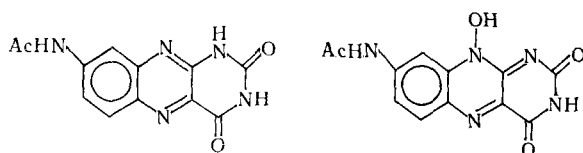
Сравнением УФ-, ИК- и эмиссионных спектров флуоресценции ряда замещенных аллоксазина со спектрами фиксированных структур показано<sup>11, 13, 16</sup>, что аллоксазины, также как и их 5-N-окиси (со связью  $N \rightarrow O$ <sup>15</sup>) имеют аллоксазиновую таутомерную структуру типа (I). Эти данные согласуются с результатами квантово-химического расчета методом МО ЛКАО ряда 7- и 8-замещенных алло- и изоаллоксазинов, которые свидетельствуют о несколько большей энергетической выгоды аллоксазиновой структуры (I), сравнительно с изоаллоксазиновой (VII)<sup>17</sup>:



Напротив, 10-N-окисям и 5,10-ди-N-окисям аллоксазинов, не имеющих заместителей при  $N_{(1)}$ , в спиртовых растворах следует приписать N-гидроокисную (изоаллоксазиновую) структуру типа (VII)<sup>13, 15</sup>, что следует из подобия спектров флуоресценции и поглощения таких N-окисей с изоаллоксазинами (рибофлавином и др.):



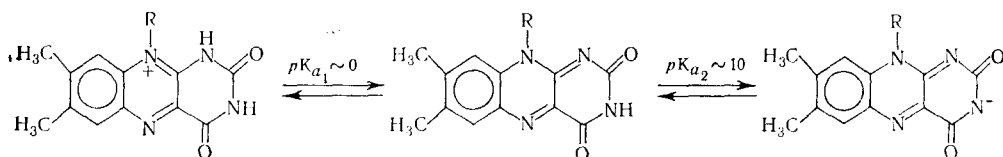
Сравнением частот ИК-спектров 8-амино- и 8-диметиламиноаллоксазинов установлено, что аминоаллоксазины находятся в амино-, а не в имино-форме<sup>11</sup>. На основании изучения спектров поглощения и флуоресценции сравнительно с фиксированной структурой 1,3-диметил-8-аминоаллоксазина можно полагать, что в спиртовых растворах 8-аминоаллоксазины и их N-окиси имеют аллоксазиновую структуру<sup>14</sup>. 8-Ациламиноаллоксазины имеют в спиртовых растворах аллоксазиновую структуру типа (I), а N-окиси 8-ациламиноаллоксазинов — изоаллоксазиновую структуру типа (VII) с группой N—OH<sup>14</sup>:



Несмотря на имеющийся обширный экспериментальный материал, до настоящего времени отсутствуют какие-либо данные по взаимному превращению таутомеров и одновременному присутствию различных таутомерных форм в растворах.

### 3. Кисотно-основные свойства

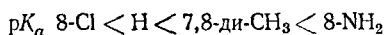
Флавин в окисленном состоянии слабо амфотерен; схема кислотно-основного равновесия дана по<sup>18</sup>:



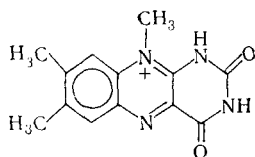
Константы ионизации для рибофлавина, 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина, рибофлавин-5'-фосфата и ФАД определены на основании измерения окислительно-восстановительных потенциалов<sup>19</sup>, интенсивности флуоресценции<sup>20, 21</sup> и поглощения<sup>19, 22</sup>, а также результатов кислотно-основного титрования<sup>23–25</sup>.

Для рибофлавина:  $pK_{a1}$  0<sup>26</sup>, —0,2<sup>19</sup>, —0,1<sup>22</sup>;  $pK_{a2}$  9,5<sup>19</sup>, 10,2<sup>20</sup>, 9,95<sup>24</sup>, 10<sup>23</sup>.

Спектрофотометрически (по методу Гайсмана и Дейвиса) определены константы кислотной диссоциации аллоксазина и его производных с заместителями в бензольном кольце; оказалось, что порядок изменения  $pK_a$  в этих соединениях хорошо согласуется с индуктивными эффектами заместителей<sup>22</sup>:

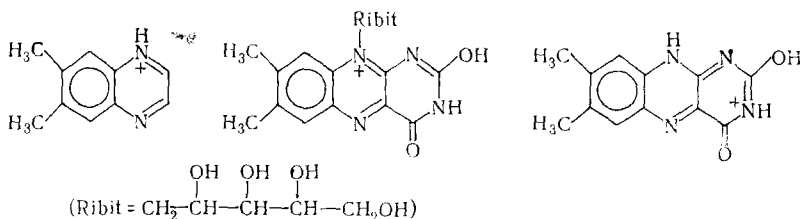


По данным рентгеноструктурного анализа бромгидрата рибофлавина<sup>27, 28</sup> и 10-метилизоаллоксазина<sup>29–32</sup> установлено, что в кристаллическом состоянии флавин протонирован по N(1) и катион имеет следующую структуру:



Протонирование флавина в серной кислоте вызывает значительный гипсохромный сдвиг длинноволновой полосы поглощения и батохромный сдвиг полосы в ближней УФ-области, так что они сливаются в одну полосу при 390 нм<sup>7</sup>. На основании сравнения УФ-спектра катиона незамещенного флавина со спектрами модельных алкильных производных флавиния Дадли, Хеммерих и др.<sup>7</sup> пришли к выводу, что флавины в водных растворах протонируются по N<sub>(1)</sub>. Это находилось в соответствии с расчетами<sup>8, 33</sup>, по которым наибольшая  $\pi$ -электронная плотность локализована на N<sub>(1)</sub>.

Однако на основании более поздних расчетов методом самосогласованного поля (ССП)<sup>12, 34–37</sup>, расширенным методом Хюккеля<sup>35–36</sup>, а также простым методом МО ЛКАО<sup>17</sup> по распределению электронной плотности замещенных алло- и изоаллоксазинов установлено, что наибольшая электронная плотность сосредоточена на атомах кислорода карбонильных групп. Следует отметить, что для атомов, имеющих различную химическую природу, основность определяется не только значением электронной плотности, но и энергией образования связи X—H<sup>38</sup>. Сходство спектров магнитного кругового дихроизма для катионов флавина и 6,7-диметилхиноксалина также приведено в качестве аргумента предложенной структуры катиона<sup>39</sup>, однако оно не находится в противоречии с протонизацией рибофлавина по кислороду карбонильной группы C<sub>(2)</sub>=O:

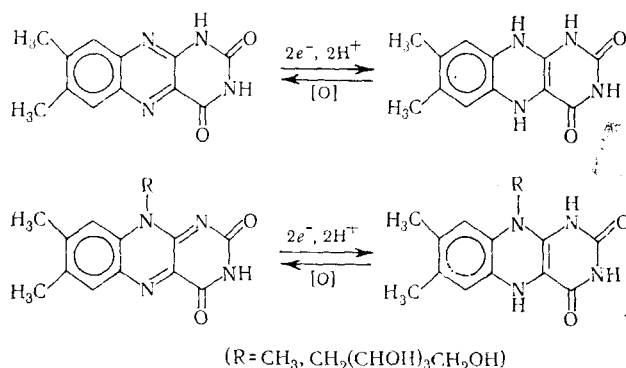


Структура монокатионов алло- и изоаллоксазинов с протонированием по кислороду в положении 2 предложена на основании исчезновения одной из карбонильных полос поглощения (1650 см<sup>-1</sup>) в 50%-ной серной кислоте<sup>40</sup>. Вывод об О-протонировании алло- и изоаллоксазинов согласуется с известными данными по протонированию люмазинов, веществ, чрезвычайно близких флавионам<sup>41</sup>.

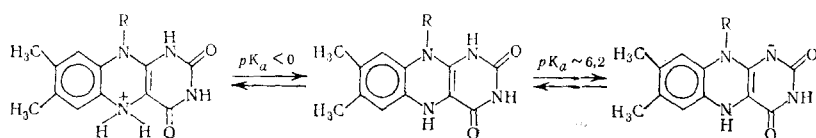
На основании изучения ИК-спектров установлено, что независимо от природы катионов, металлические соли флавинов в твердом состоянии имеют лактимное строение<sup>11</sup>.

#### 4. Восстановление

В аэробных условиях как алло-, так и изоаллоксазины полностью находятся в окисленной форме, поскольку их окислительно-восстановительные потенциалы (например, -0,21 в для рибофлавина) значительно ниже потенциала атмосферного кислорода (+0,82 в)<sup>42</sup>. Некоторые восстановители — гидросульфит натрия, цинк в уксусной или соляной кислоте, водород в присутствии палладиевого или платинового катализаторов и др. способны в анаэробных условиях восстанавливать эти соединения в нефлуоресцирующую 5,10- и 1,5-дигидроформу<sup>43–47</sup>. При доступе кислорода полностью или частично восстановленные алло- и изоаллоксазины реокисляются:

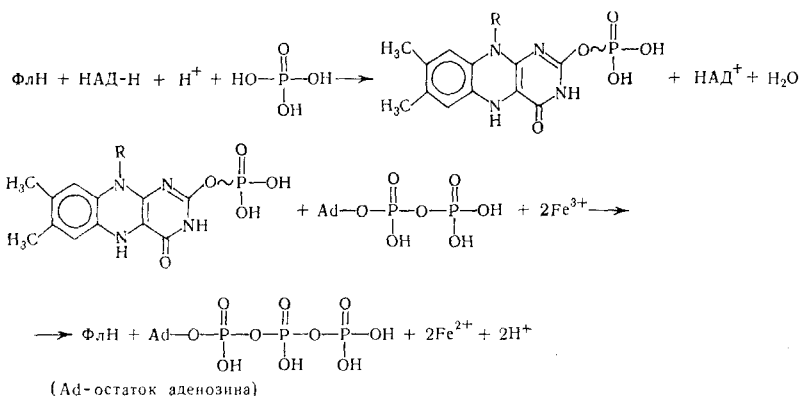


Восстановленные флавины в разбавленных водных растворах бесцветны, а в концентрированных окрашены в оранжево-коричневый цвет<sup>48</sup>. Уравнение кислотно-основного равновесия флавинов в восстановленной форме дано по<sup>18</sup>:



Сравнением УФ-спектров 1,5-дигидролюмифлавина и его N,N- и O,O-диалкилпроизводных установлено, что 1,5-дигидрофлавины имеют лактамную структуру, что подтверждается также ИК-спектрами 5-ацил-1,5-дигидролюмифлавина и 1,5-дигидрорибофлавина в хлороформе<sup>4, 7</sup>. Однако, в отличие от флавинов, переход 1,5-дигидрофлавинов в лактимную форму не связан со значительным увеличением энергии, что согласуется с легким алкилированием по кислороду<sup>7</sup>.

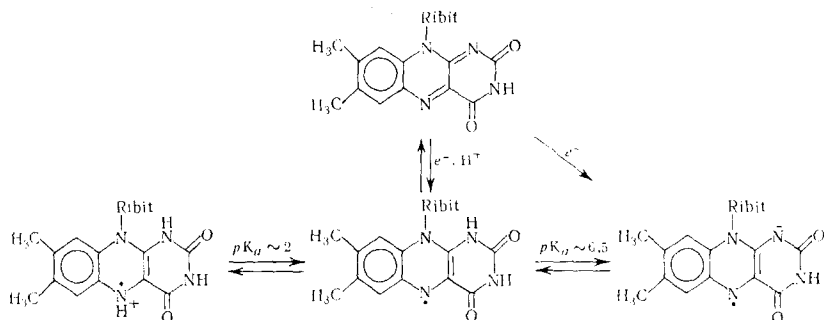
Высказано предположение, что в процессах окислительного фосфорилирования при участии флавинов (ФлН) образуются фосфорные эфиры лактимной формы 1,5-дигидрофлавина, передающие фосфорную группу на АДФ с образованием АТФ<sup>49, 50</sup>:



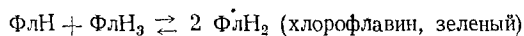
Поскольку алкилирование по N<sub>(3)</sub> не влияет на кислотность 1,5-дигидрофлавинов ( $pK_a$  6<sup>18</sup>, 7,2<sup>51</sup>), считают, что способный диссоциировать протон находится на N<sub>(1)</sub>.

На основании анализа спектров поглощения при различных рН для 1,5-дигидрофлавинов предложена непланарная структура молекулы, которая сложена по оси  $N_{(5)}-N_{(10)}$  и имеет конформацию «крыльев бабочки»<sup>7, 10, 18</sup>. Такая неплоская структура 1,5-дигидрофлавинов находится в хорошем соответствии с расчетами по методу Хюккеля<sup>52</sup> и ССП<sup>34</sup> и с полной достоверностью установлена рентгеноструктурным анализом 5-ацетил-3,7,8,10-тетраметил-5,10-дигидроизоаллоксазина<sup>53</sup>, а также 5-ацетил-9-бром-1,3,7,8,10-пентаметил-1,5-дигидроизоаллоксазина<sup>54, 55</sup>; плоскости бензольного и пиримидинового циклов расположены под углом  $140-160^\circ$ <sup>53, 56</sup>.

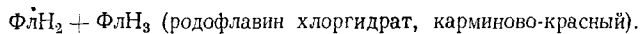
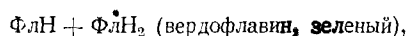
В отличие от двухэлектронного восстановления алло- и изоаллоксазинов, рассмотренного выше, одноэлектронное восстановление флавинов, например рибофлавина, приводит к образованию свободных радикалов — флавосемихинонов<sup>19</sup>:



Однако с определенностью нельзя сказать, являются ли флавосемихиноны промежуточными соединениями<sup>57</sup> при двухэлектронном восстановлении или они образуются при взаимодействии между окисленной и восстановленной формами флавинов<sup>58</sup>,



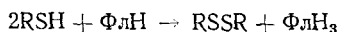
что более вероятно, так как флавосемихиноны находятся в растворе в равновесном состоянии с другими формами<sup>7, 59, 60</sup>; при рН 8—9 концентрация радикалов минимальна и равновесие смещено в сторону окисленной и восстановительной формы<sup>61, 62</sup>. Из продуктов различной степени восстановления образуются достаточно стабильные димерные комплексы<sup>63, 64</sup>



Изучению реакций одно- и двухэлектронного восстановления флавинов и установлению структуры флавиновых радикалов посвящены многочисленные исследования<sup>51, 65-70</sup>.

Реакция восстановления флавинов в темноте протекает лишь с немногими электронодонорными субстратами: НАД-Н, НАДФ-Н и их аналогами<sup>71-73</sup>, дигидролипоевой кислотой<sup>74, 75</sup>, *цис*- и *транс*-дигидрофталевыми кислотами и их эфирами<sup>76</sup>, меркаптанами<sup>77</sup>. Взаимодействие флавинов (ФлН) с НАД-Н и НАДФ-Н, а также их аналогами протекает по реакции второго порядка, с дигидролипоевой кислотой — по реакции первого порядка; восстановление идет по двухэлектронному механизму<sup>73</sup>, причем быстрая диссоциация одной из тиольных групп предшествует восстановлению. Восстановление дигидрофталевыми кислотами и

их эфирами идет по реакции второго порядка при  $\text{pH} > 9$ <sup>76</sup>. Флавины реагируют с меркаптанами по схеме<sup>73, 77</sup>:



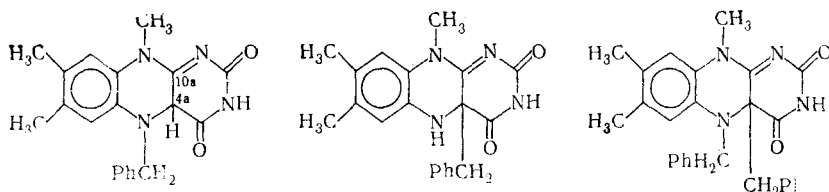
В анаэробных условиях легко осуществляется фотовосстановление флавинов многими веществами, являющимися донорами электронов: этилендиаминотетрауксусной кислотой (ЭДТА), аминокислотами — цистеином, метионином, пролином, гистидином и др.<sup>78–83</sup>.

Предположение о том, что донором электронов при фотовосстановлении флавинов может явиться вода<sup>84–87</sup>, представлялось спорным<sup>88–89</sup>, однако некоторые экспериментальные данные последних лет, полученные манометрическим и масс-спектрометрическими методами, свидетельствуют о том, что в ходе фотохимических реакций с участием рибофлавина или люмифлавина происходит разложение воды<sup>90–92</sup>. По-видимому, фотовозбужденный флавин реагирует с внешним донором электронов в триплетном состоянии<sup>93–95</sup>. Рибитильная боковая цепь способствует переходу из первого синглетного возбужденного состояния флавина в триплетное<sup>96–97</sup>. При отсутствии внешнего донора электронов его роль выполняет рибитильная боковая цепь (для рибофлавина), которая при этом расщепляется<sup>95</sup>.

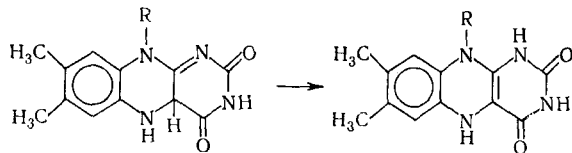
Высказано предположение, что прямое расщепление рибофлавина до люмихрома может проходить также через синглетное возбужденное состояние<sup>98</sup>. Природа первого возбужденного триплетного и синглетного состояния изучалась в различных аспектах<sup>99–106</sup>.

Кроме реакции восстановления алло- и изоаллоксазинов, протекающей по атомам азота положения 1 и 5, изучены и другие направления реакции.

Хеммерих с сотр. при фотовосстановлении люмифлавина фенилацетат-ионом выделил моно- и дибензоильные производные 4а,5-дигидролюмифлавина<sup>82, 107</sup>:

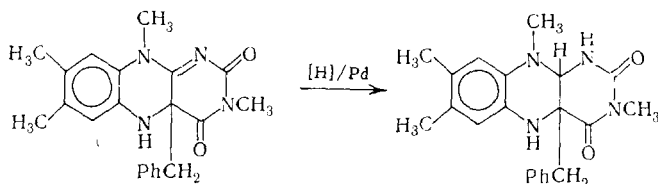


Возможно, что такие 4а,5-дигидрофлавины образуются в биохимических реакциях под действием гидрид-иона, например, при дегидрировании янтарной кислоты в fumarовую кислоту в присутствии сукцинатдегидрогеназы<sup>108</sup>. Допустимо также предположение, что в биохимических реакциях 4а,5-дигидрофлавинов в результате внутримолекулярного сдвига протонов превращается затем в 1,5-дигидрофлавин<sup>108</sup>:



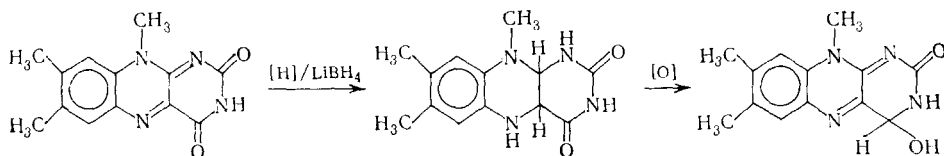
При каталитическом гидрировании 3-метил-4а-бензил-4а,5-дигидролюмифлавина происходит дальнейшее восстановление и образуется 3-метил-4а-бензил-1,4а,5,10а-тетрагидролюмифлавин<sup>82</sup>:





Флавиновые соли при восстановлении боргидридом натрия также превращаются в 1,4a,5,10a-тетрагидропроизводные<sup>109</sup>.

Восстановление изоаллоксазинов, например люмифлавина, боргидридом лития идет по двум направлениям: в анаэробных условиях образуется 1,5-дигидролюмифлавин (см. выше), т. е. обычный продукт восстановления, а в присутствии кислорода воздуха реакция приводит к образованию 3,4-дигидролюмифлавина, вещества, в кристаллическом состоянии и в растворе органических растворителей стабильного к реокислению, но фотохимически окисляющегося в люмифлавин<sup>110</sup>. Возможно, что первоначальным продуктом этой реакции является 1,4a,5,10a-тетрагидролюмифлавин, который затем частично окисляется и перегруппировывается в 3,4-дигидролюмифлавин<sup>110</sup>:



Восстановление боргидридом лития по карбонилу положения 4 наблюдается и для аллоксазинов, например, 1,3,7,8-тетраметилаллоксазин превращается в 3,4-дигидропроизводное<sup>111</sup>.

Примечательно, что оксидазы *D*- и *L*-аминокислот, восстановленные боргидридом натрия, не теряют биокаталитической активности, из чего следует, что субстратное дегидрирование не затрагивает положения 4 флавиновой протестической группы<sup>112</sup>.

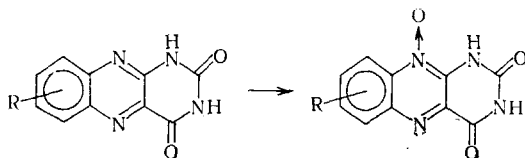
В жестких условиях каталитического гидрирования происходит восстановление бензольного цикла молекулы изоаллоксазинов с образованием октагидроизоаллоксазинов<sup>113</sup>.

## 5. Окисление

Изоаллоксазины, в том числе рибофлавин, устойчивы к окислителям, даже таким сильным, как азотная кислота, перекись водорода и бром, но окисляются хромовой кислотой и марганцевокислым калием<sup>1, 2</sup>. При окислении рибофлавина тетраацетатом свинца или иодной кислотой расщепляется боковая цепь между соседними гидроксильными группами и образуется 7,8-диметил-10-изоаллоксазинацетальдегид<sup>114, 115</sup>, это же соединение получается и при фотолизе.

Петеринг и Гиссен<sup>116, 117</sup> окислили 8-хлораллоксазин 30%-ной перекисью водорода в 88%-ной муравьиной кислоте приписали полученному соединению структуру 5,10-ди-N-окиси 8-хлораллоксазина<sup>116</sup>. Позднее Березовский и Аксельрод показали<sup>118, 119</sup>, что при окислении 8-хлораллоксазина, аллоксазина, 7-метилаллоксазина и 7,8-диметилаллоксазина (люмихрома), а также 1,3-диметилаллоксазина и др. 30%-ной перекисью водорода в 88%-ной муравьиной кислоте, надуксусной кислотой и моно-

надсерной кислотой в момент образования однозначно получают только соответствующие моно-N-окиси аллоксазинов:



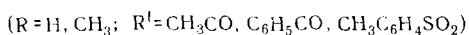
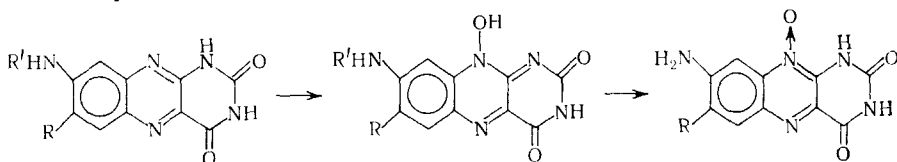
N-Оксиям аллоксазинов отвечает строение 10-N-оксией<sup>118</sup>, поскольку окислению атомов азота положений 1 и 3 пиримидинового цикла и положения 5 пиазинового цикла молекулы препятствуют оксогруппы положений 2 и 4.

Следует отметить, что однозначное течение реакции окисления пиазинового цикла 8-хлораллоксазина находится в соответствии с тем, что пиазиновый цикл 6-хлорхиноксалина также дает при окислении в основном моно-N-окись<sup>120</sup>. При щелочном расщеплении N-окиси 8-хлораллоксазина и последующем декарбоксилировании была получена соответствующая 1-N-окись 7-хлор-2-оксихиноксалина<sup>118</sup>.

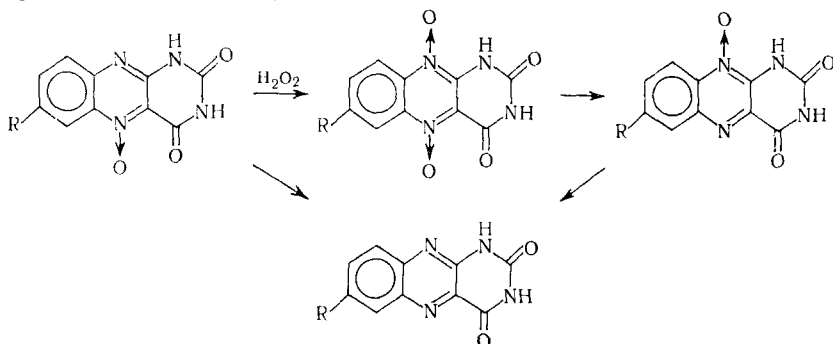
Образование 10-моно-N-оксией соответствует расчетным данным, по которым величина избыточного электронного заряда у атома азота в положении 5 аллоксазинового цикла значительно меньше, чем у атома азота в положении 10<sup>17, 121</sup>.

Характерно, что производные с нитрогруппой в положении 9 (например, 7,9-динитроаллоксазин и 6,9-динитролюмихром) не окисляются перекисью водорода и не дают N-оксией<sup>122</sup>. В то же время 6-нитро-7-метилаллоксазин окисляется с образованием 10-N-оксией<sup>122</sup>.

Аминоаллоксазины не окислялись однозначно перекисью водорода в соответствующие 10-N-окисии. Это удалось осуществить через ацильные производные 8-аминоаллоксазинов. Таким путем были синтезированы соответствующие N-окисии амино- и ациламиноаллоксазинов<sup>14</sup>:



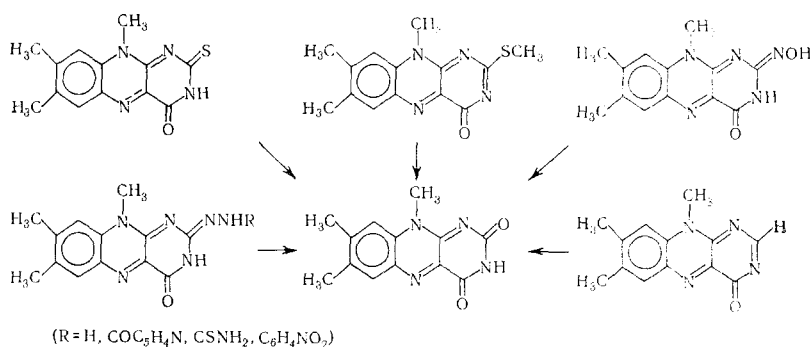
5-N-Окиси аллоксазина, 7-хлор-, 7-метил- и 1,3-диметилаллоксазина, полученные по методу Голднера<sup>123-125</sup> циклизацией соответствующих нитрозоурацилов, были окислены перекисью водорода в муравьиной кислоте при 40° в соответствующие 5,10-ди-N-окисии аллоксазинов<sup>15</sup>:



5,10-Ди-N-окиси аллоксазинов характеризуются наличием неравноценных по стабильности N-окисных групп, чему соответствует различная основность атомов азота в положениях 5 и 10 аллоксазинового цикла. Так, при нагревании 5,10-ди-N-окиси 7-метилаллоксазина в муравьиной кислоте происходит отщепление кислорода у атома азота положения 5 и образование 10-N-окиси 7-метилаллоксазина<sup>15</sup>. В этих же условиях 5-N-окиси аллоксазинов дезоксигенируются с образованием неокисленных аллоксазинов.

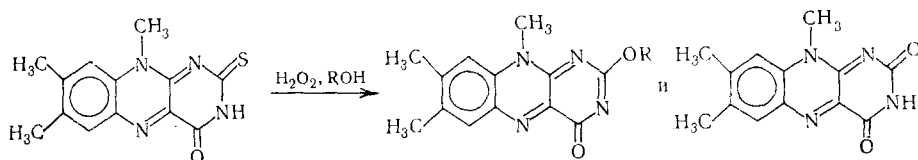
Связь  $N_{(10)} \rightarrow O$  значительно более прочная, чем связь  $N_{(5)} \rightarrow O$ , однако длительное кипячение 10-моно-N-окисей аллоксазинов в муравьиной кислоте приводит к полному дезоксигенированию с образованием аллоксазинов<sup>15</sup>.

В то время как изоаллоксазины, например люмифлавин, устойчивы к действию перекиси водорода и других окислителей, их 2- и 4-производные (2- и 4-тиолюмифлавины, тио- и иминоэфиры, оксимы, гидразоны, семикарбазоны, а также 2- и 4-дезоксипроизводные) легко могут быть окислены кислородом воздуха или разбавленной перекисью водорода в оксо-форму флавина<sup>5, 6, 126–130</sup>.



Исключение составляет 2-люмифлавинимин, который не окисляется слабыми окислителями<sup>126</sup>.

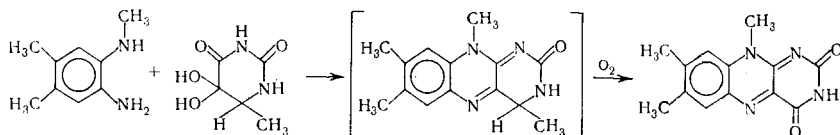
Следует отметить, что при действии перекиси водорода на 2-тиолюмифлавин в спирте образуется не 2-дезоксильюмифлавин, как полагали ранее<sup>128</sup>, а смесь 2-O-алкиллюмифлавина и люмифлавина, которая легко может быть разделена<sup>6</sup>:



2- и 4-Дезоксильюмифлавины неустойчивы и окисляются в люмифлавин уже в момент образования<sup>127</sup>. Однако, если использовать в качестве окислителя азотистую кислоту, которая является «радикалуловителем»<sup>131</sup>, то можно получить устойчивый 2-дезоксильюмифлавин в виде перхлората<sup>6</sup>. Его переход в люмифлавин осуществляется в результате фотоокисления<sup>6</sup>.

4-Дезоксиаллоксазин и 4-дезоксильюмифлавин, получаемые при конденсации соответствующих диамминов с изодиауровой кислотой, еще менее устойчивы, чем 2-дезоксизомеры; они существуют в форме гидрата, и в момент образования окисляются кислородом воздуха в аллоксазин и люмифлавин соответственно<sup>132</sup>.

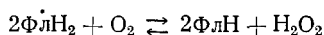
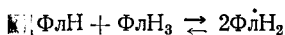
Точно также при конденсации *o*-диаминов с 6-метилизодиазуровой кислотой в качестве единственного продукта реакции образуется люмифлавин. Интересно отметить, что в этом случае происходит легкое расщепление С—С-связи (при комнатной температуре) <sup>132</sup>:



Введение нуклеофильных заместителей в бензольный цикл молекулы изоаллоксазинов повышает устойчивость 2-дезоксизоаллоксазинов или 2-тиоизоаллоксазинов к окислению. Так, 2-дезоксиз-8-ацетиламино(нор)-люмифлавин не окисляется кислородом воздуха, а также слабыми окислителями <sup>133</sup>.

2-Тео-8-амино(нор)люмифлавин, в противоположность 2-тиолюмифлави-ну, не подвергается заметному воздействию кислорода воздуха. Только при взаимодействии с перекисью водорода медленно происходит образование 2-оксогруппы и выделение серы <sup>133</sup>:

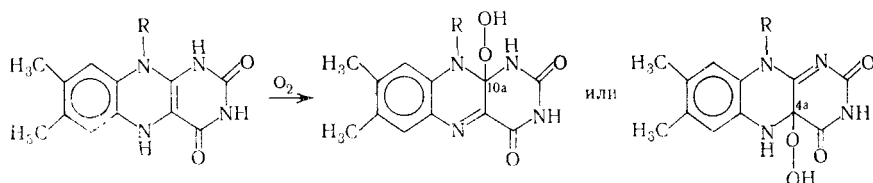
В отличие от флавинов (ФлН), 1,5-дигидрофлавины (ФлН<sub>3</sub>) легко окисляются даже кислородом воздуха, причем в реакцию с кислородом, возможно, вступают свободные радикалы (ФлН<sub>2</sub>), всегда присутствующие в небольшом количестве в восстановленном флавине <sup>134</sup>.



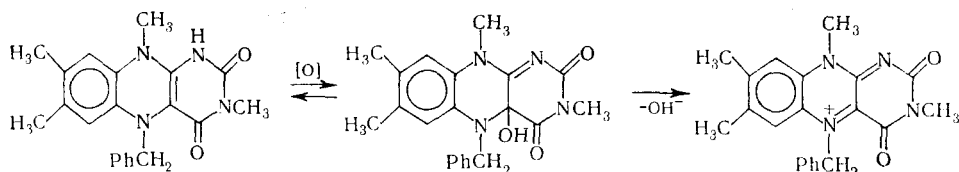
Однако более вероятно, что с кислородом реагируют не свободные радикалы (флавосемихиноны), а 1,5-дигидрофлавины <sup>56, 135</sup>. При спектрофотометрическом изучении кинетики их окисления установлено, что скорость реакции возрастает по мере образования окисленного флави-на и, следовательно, эту реакцию можно рассматривать как автоката-литическую <sup>134</sup>. Так как обычно 1,5-дигидрофлавин находится в некопланарной конформации <sup>7</sup>, то с кислородом он реагирует, по-види-мому, после того, как в результате образования  $\pi$ -комплекса между окисленным и восстановленным флавином его молекула перейдет в плос-кое вибрационно-возбужденное состояние <sup>56</sup>. Алкилирование 1,5-дигидро-флавина по атому азота положения 1 стабилизирует некопланарное со-стояние, затрудняет возможность конформационного перехода молеку-лы в плоское состояние и резко повышает ее устойчивость к окислению кислородом воздуха <sup>7, 136</sup>.

Во флавопротеидах копланарная структура дигидрофлавина может возникнуть в результате образования комплекса с аденином или трип-тофаном <sup>56</sup>.

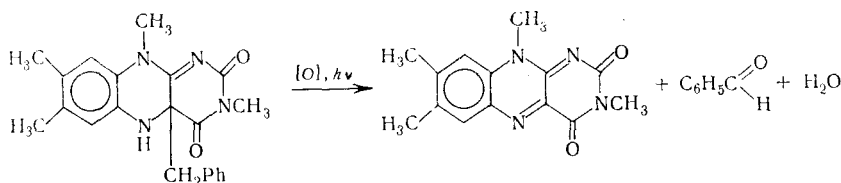
При окислении 1,5-дигидрофлавинов и 5,10-дигидроаллоксазинов обра-зуются промежуточные соединения в виде гидроперекисей по положению 10а <sup>137–140</sup> или 4а <sup>140</sup>, причем положение 4а, по-видимому, более реак-ционноспособно <sup>82, 107, 141</sup>.



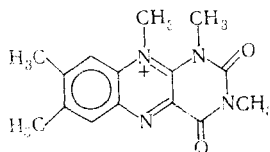
5,10-Дигидроаллоксазины реагируют с их гидроперекисями с образованием 10а-окси-1,10а-дигидроаллоксазинов<sup>142</sup>. В то время как 3-метил-5-бензил-1,5-дигидролюмифлавин обратимо окисляется в темноте через промежуточное образование свободного радикала в карбинольное основание, которое при  $\text{pH} < 4$  отщепляет гидроксил-ион и превращается в четвертичную соль 3-метил-5-бензиллюмифлавиния,



его изомер, 3-метил-4а-бензил-4а,5-дигидролюмифлавин необратимо фотоокисляется при одновременном расщеплении  $\text{C}-\text{C}$ -связи с образованием 3-метиллюмифлавина<sup>82, 107</sup>:

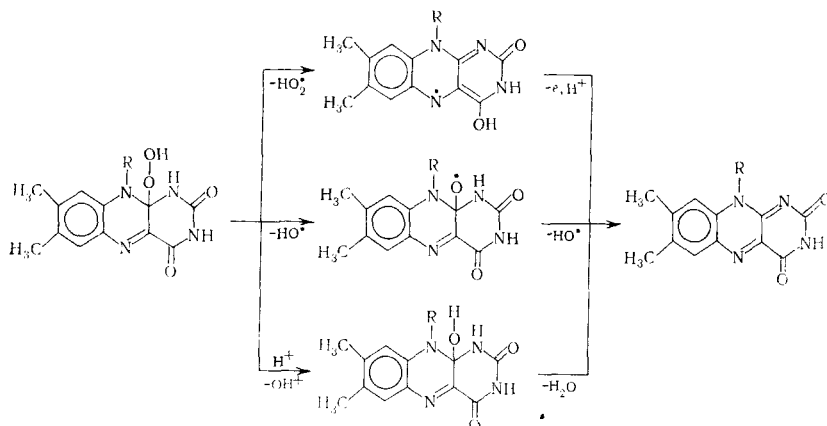


Путем окисления азотистой кислотой 1,3-диалкил-1,5-дигидролюмифлавина и его 5-ацетилпроизводного образуются четвертичные флавиновые соли<sup>136</sup>:



Так же реагируют и О-алкилпроизводные 5-ацетил-1,5-дигидролюмифлавина. Планарность молекулы дигидрофлавина в реакции окисления достигается, возможно, в результате промежуточного образования свободного радикала<sup>136</sup>.

Простетическая группа флавопротеидов различных типов находится в специфическом протеиновом окружении и это, по-видимому, определяет характер передачи электронов от восстановленной формы флавина или непосредственно на кислород (оксидазы), или на промежуточный одно-электронный акцептор (дегидрогеназы) и отражается на их отношении к реакции с сульфитом<sup>140</sup>. Так, оксидазы образуют с сульфитом аддукт по атому азота положения 5 флавина, в то время как дегидрогеназы с сульфитом не реагируют<sup>140, 143</sup>. Различие в реагировании флавопротеидов различных типов — дегидрогеназ и оксидаз может быть связано также с характером дальнейшего поведения гидроперекисей дигидрофлавинов, которые могут расщепляться по нескольким путям<sup>140</sup>:



Аналогичную серию реакций можно ожидать и для аддукта по положению 4а<sup>140</sup>.

В соответствии с путями расщепления гидроперекисей дигидрофлавинов дегидрогеназы реагируют преимущественно с образованием  $\text{HO}_2^\bullet$  и промежуточного флавинового радикала<sup>140</sup>; как установлено, большинство ферментов этого типа при реакции с кислородом образуют свободные радикалы флавинов, которые затем быстро реагируют с одноэлектронными акцепторами<sup>144, 145</sup>. Для дигидро-форм оксидаз характерно реагирование с образованием флавинов и перекиси водорода<sup>146</sup>.

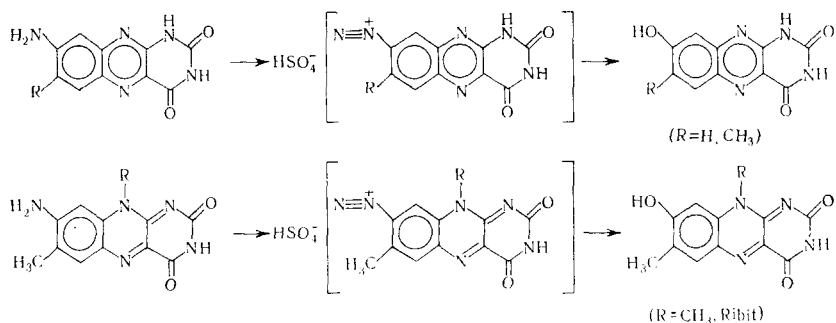
## 6. Нуклеофильное замещение

8-Хлораллоксазин не вступает в реакцию с алифатическими и ароматическими аминами, пиридином и морфолином при нагревании<sup>147</sup>.

Иначе ведут себя 8-галогензамещенные изоаллоксазины — они легко реагируют с такими нуклеофильными агентами, как моноэтанолламин, диэтанолламин, пиперидин и морфолин при нагревании в их избытке или при проведении реакции в растворе диметилформамида<sup>147, 148</sup>. Таким путем из 8-хлор(нор)люмифлавина был получен 8-оксиэтиламино(нор)люмифлавин<sup>148</sup>.

Более низкую реакционную способность 8-хлор-7,10-диметилизоаллоксазина по сравнению с 8-хлор-10-фенилизоллоксазином можно объяснить влиянием электронодонорной  $\text{CH}_3$ -группы в положении 7<sup>147</sup>. Атом хлора в положении 8 изоаллоксазинового цикла замещается также на метоксигруппу. Так, 8-хлор(нор)люмифлавин реагирует с метилатом натрия с образованием 8-метокси(нор)люмифлавина<sup>148</sup>.

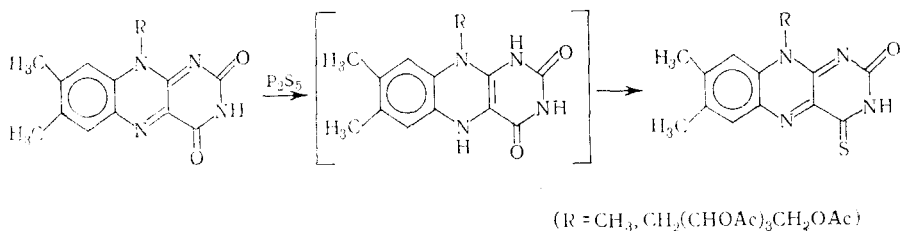
Диазотированием сернокислых растворов 8-аминоаллоксазинов, их 9-азопроизводных, а также 8-аминоизоаллоксазинов, и последующим гидролитическим разложением полученных солей диазония синтезированы 8-оксизаллоксазины и оксизаналоги природных флавинов — 8-окси(нор)люмифлавин и 8-окси(нор)рибофлавин<sup>149, 150</sup>.



Если разложение солей диазония 8-аминоизоаллоксазинов проводить в условиях реакции Зандмейера, то образуются соответствующие 8-галогензамещенные изоаллоксазины. Так были получены 8-хлор(нор)люмифлавин<sup>133</sup>, 8-хлор(нор)рибофлавин и 8-бром(нор)люмифлавин<sup>151</sup>. При этом показано, что диметилсульфоксид способствует протеканию нуклеофильной замены диазогруппы в положении 8 изоаллоксазина на галоген<sup>151</sup>.

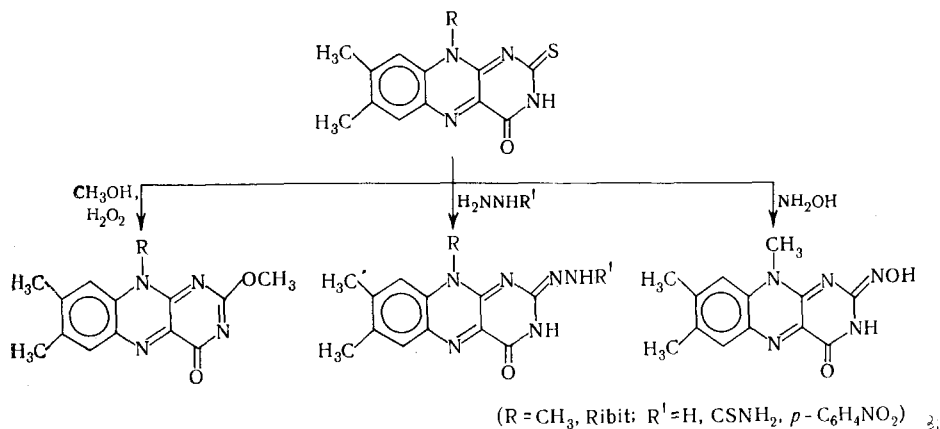
При взаимодействии алло- и изоаллоксазинов с нуклеофильными агентами обычно не происходит замещения у атомов углерода C<sub>(2)</sub> и C<sub>(4)</sub> пиримидинового цикла.

Введение серы в положение 4 изоаллоксазинового цикла при реакции люмифлавина и 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина с пентасернистым фосфором в пиридине с образованием 4-тиолюмифлавина<sup>127</sup> и 4-тио-2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина<sup>152</sup> является исключением. В этом случае, по-видимому, сначала происходит восстановление сульфидом и затем замещение на стадии 1,5-дигидрофлавина<sup>10, 127</sup>:



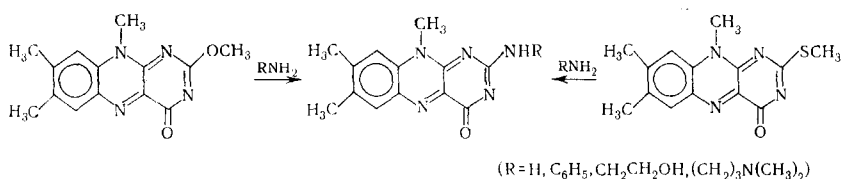
Аналогичное избирательное замещение на серу имеет место также в пуринном ряду<sup>153</sup>. 2-Оксогруппа устойчива к действию пентасернистого фосфора.

Нуклеофильное замещение в положениях 2 и 4 флавинов идет только для их производных: 2- и 4-тиофлавинов, O- и S-алкилзамещенных. 2-Тиолюмифлавин и 2-тиорибофлавин легко вступают в реакции с нуклеофильными агентами (алкоксигруппой, гидразингидратом, *p*-нитрофенилгидразином, семикарбазидом, тиосемикарбазидом, гидроксиламином) с образованием O-алкилпроизводных, оксимов, гидразонов, семикарбазонов, тиосемикарбазонов и др.<sup>5, 10, 128</sup>.

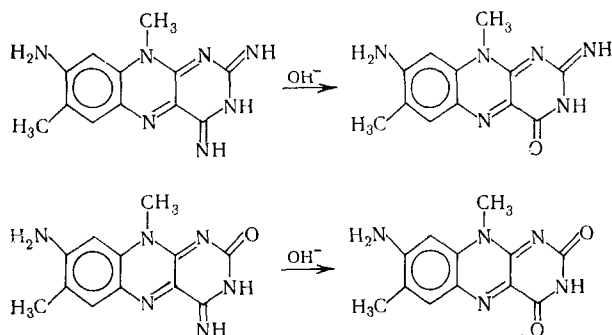


Аналогичные реакции описаны также для 4-тиолюмифлавина<sup>5</sup>.

2-О-Алкилпроизводные, а также 2- и 4-тиоэфиры реагируют с аммиаком и аминами (анилином, моноэтаноламином, морфолином и др.) с образованием иминов и иминоэфиров<sup>5, 10</sup>:

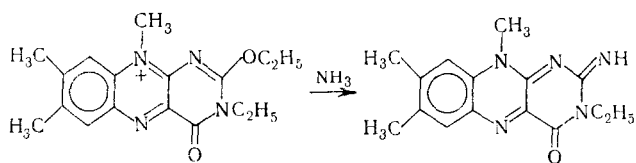


Иминогруппа в положении 4 избирательно гидролизуетс в мягких условиях. Так, 8-амино(нор)люмифлавин-2,4-диимин уже путем кратковременной обработки теплой щелочью превращается в 2-моноимин, который гораздо более устойчив по отношению к щелочам; из 4-моноимина в подобных условиях легко образуется диоксо соединение<sup>133</sup>:

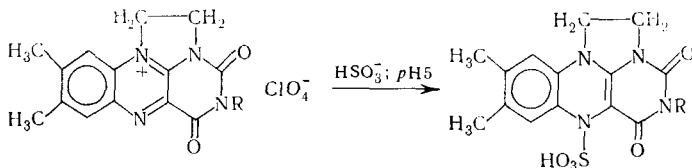


При переходе к четвертичным солям азотсодержащих гетероциклов атака нуклеофильными агентами облегчается, как это имеет место в случае нуклеофильного замещения катионов пиридиния, пирилия, тиапирилия и др.<sup>154</sup>. Дадли и Хеммерих показали, что 2-О-, 3-N-диалкиллюмифлавиниевые соли реагируют с аммиаком по простому механизму присоединения-отщепления с образованием люмифлавинимина<sup>136</sup>:





При действии бисульфита натрия на флавиновые соли с замещенными атомами азота положений 1 и 3 идет реакция нуклеофильного присоединения сульфит-аниона по положению 5 с образованием дигидрофлавино-сульфитного аддукта<sup>155</sup>:



Сульфитный аддукт 1,3,7,8,10-пентаметилизоаллоксазиниевой соли менее стабилен и не был получен в чистом виде, однако и в этом случае, по-видимому, имеет место присоединение сульфит-аниона по положению 5<sup>155</sup>.

Установлено, что сульфит-анионы образуют аддукты с флавиновой протестической группой многих флавопротеидов: глюкозооксидазой<sup>143</sup>, оксидазами *D*- и *L*-аминокислот, оксинитрил-лиазой, лактатоксидазой и гликолатоксидазой<sup>140</sup>, т. е. с ферментами типа оксидаз, которые переносят водород непосредственно на молекулярный кислород. Флаводегидрогеназы, которые переносят водород на специфический акцептор, с сульфит-анионом не реагируют<sup>140</sup>. Это интересный случай корреляции между химической реакционной способностью флавиновой протестической группы флавопротеидов различных типов и их биохимическими функциями.

## 7. Электрофильное замещение в бензольном цикле

Реакции электрофильного замещения бензольного цикла соединений алло- и изоаллоксазинового ряда до последнего времени не были известны. Непосредственное введение различных заместителей открывает большие перспективы по структурной модификации молекулы рибофлавина и родственных соединений, так как возможность получения замещенных в бензольном цикле алло- и изоаллоксазинов сильно лимитируется ограниченностью прямых синтезов<sup>1,2</sup>.

По данным расчета методом МО ЛКАО установлено<sup>17</sup>, что введение электронодонорных заместителей ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{NH}_2$  и др.) в положения 7 и 8 алло- и изоаллоксазинового цикла вызывает изменения в распределении электронной плотности ( $q_\pi$ ) и граничной электронной плотности ( $f_\pi$ ) главным образом в бензольной части молекулы, где для алло- и изоаллоксазинов характер распределения  $q_\pi$  и  $f_\pi$  существенно сходен.

Из данных квантово-химического расчета следует, что и в статическом приближении «изолированной молекулы» (активный центр характеризуется наибольшей величиной  $q_\pi$ ) и в динамическом приближении локализации (у активного центра наименьшая величина энергии локализации, ЭЛ)<sup>156</sup> для аллоксазина, люмикрома, рибофлавина, 8-амино- и 8-оксиаллоксазинов электрофильная атака может быть направлена в первую очередь на атом углерода в положении 9, у 7-метилаллоксазина — в положение 6. Кроме положения 9 у аллоксазина, 8-

ТАБЛИЦА 1

Индексы реакционной способности 7- и 8-замещенных алло- и изоаллоксазинов

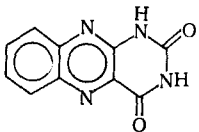
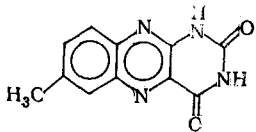
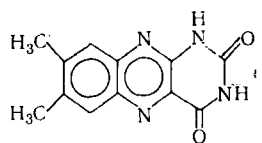
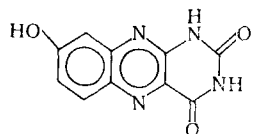
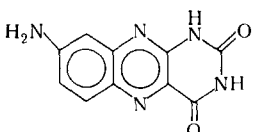
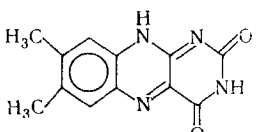
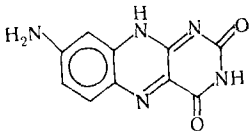
Соединение	Место замещения	$q_\pi$	$f_\pi$	ЭЛ
	6	+0,012	0,163	2,347
	7	-0,002	0,223	2,449
	8	+0,021	0,012	2,548
	9	-0,013	0,293	2,277
	6	-0,019	0,212	2,247
	8	+0,007	0,002	2,494
	9	-0,011	0,263	2,282
	6	-0,017	0,216	2,384
	9	-0,042	0,276	2,271
	6	+0,014	0,181	2,358
	7	-0,013	0,191	2,383
	9	-0,045	0,353	2,164
	6	+0,017	0,118	2,372
	7	-0,033	0,013	2,278
	9	-0,106	0,594	1,980
	6	-0,002	0,014	2,417
	9	-0,051	0,071	2,321

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Соединение	Место замещения	$q_{\pi}$	$f_{\pi}$	ЭЛ
	6	+0,029	0,032	2,413
	7	-0,048	0,210	2,234
	9	-0,110	0,011	2,042

$q_{\pi}$  — избыточная  $\pi$ -электронная плотность,

$f_{\pi}$  — граничная  $\pi$ -электронная плотность,

ЭЛ — энергия локализации.

амино- и 8-оксиаллоксазинов реакционноспособно положение 7, у люмихрома и рибофлавина — положение 6<sup>17</sup> (табл. 1). Эти выводы полностью согласуются с полученными экспериментальными данными.

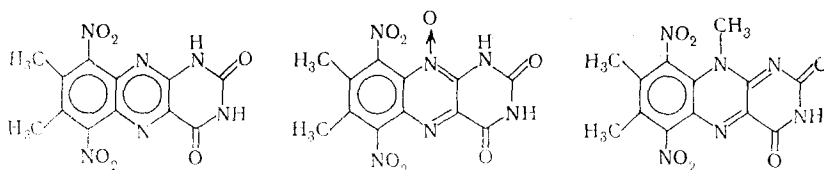
Березовский и Аксельрод изучили нитрование аллоксазинов<sup>122, 157</sup>, их 10-N-окисей<sup>122</sup> и изоаллоксазинов<sup>122</sup> в условиях, когда реакция заведомо идет по электрофильному механизму<sup>158</sup>.

При нитровании аллоксазина дымящей азотной кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты при 20° образуется смесь 7- и 9-мононитропроизводных в соотношении 2:3. Нитрование аллоксазина в жестких условиях — дымящей азотной кислотой в 25%-ном олеуме при 70° приводит к 7,9-динитроаллоксазину, который образуется также при нитровании в тех же условиях 7- и 9-мононитросоединений. При этом вторая нитрогруппа в соответствии с ориентирующим эффектом первой нитрогруппы замещает атом водорода бензольного цикла в мета-положении<sup>157</sup>.

Нитрование 7-метилаллоксазина и его 10-N-окиси нитрующей смесью при 20° приводит только к 6-нитропроизводным<sup>122</sup>.

Избирательность нитрования в положение 6 соответствует наименьшей величине энергии локализации для 7-метилаллоксазина (табл. 1), сравнительно с положением 8.

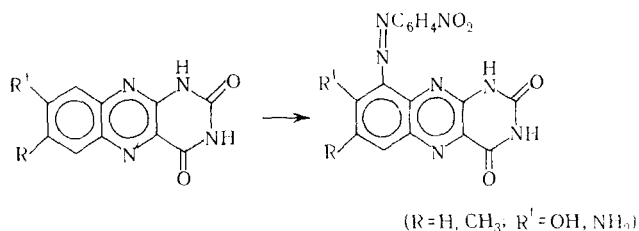
Нитрование 7, 8-диметилаллоксазина, его N-окиси и люмифлавина дымящей азотной кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты однозначно приводит к образованию 6,9-динитросоединений<sup>122</sup>.



Мононитропроизводных в этих условиях получить не удалось. Возможно, что метильные группы в положениях 7 и 8 влияют на значительное усиление нуклеофильности положений 6 и 9, которые становятся равноценными и нитрование протекает по обоим этим положениям с одинаковой скоростью. В противном случае реакция закончилась бы на стадии образования мононитросоединения (6 или 9), неспособного вступать далее в реакцию нитрования. Действительно оказалось, что 9-нитро-7,8,10-триметилизоаллоксазин (полученный прямым синтезом) не изменяется в условиях реакции нитрования<sup>122</sup>.

Мак Кормик<sup>159</sup> осуществил бромирование и хлорирование люмифлавина и 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина в положении 9 при действии N-галогенсукцинимидов в трихлоруксусной кислоте в присутствии каталитических количеств перекиси бензоила. Возможно, что с галогеном флавин реагирует в протонированной форме по электрофильному механизму<sup>159</sup>, однако применение перекиси бензоила в качестве катализатора не позволяет исключить возможность радикального механизма.

Березовский и Тульчинская с сотр. изучили реакцию азосочетания 8-амино- и 8-оксиаллоксазинов с диазотированными ароматическими аминами<sup>150</sup>. При азосочетании 8-аминоаллоксазинов с хлористым фенолом и *p*-нитрофенилдиазонием в водном диметилформамиде (ДМФА) при pH 2—3 были получены 8-амино-9-арилазоаллоксазины, а при азосочетании 8-оксиаллоксазинов в слабо-щелочной среде — 8-окси-9-арил-азоаллоксазины:

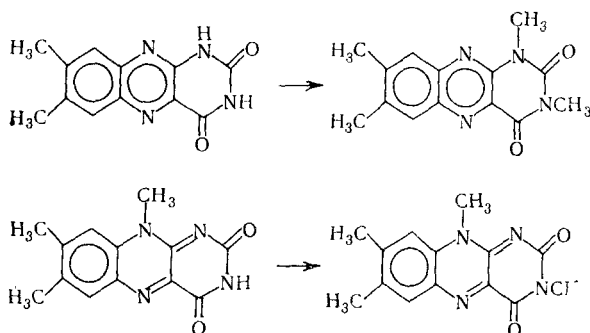


Тот факт, что азосочетание 8-амино- и 8-оксиаллоксазинов протекает по положению 9 аллоксазинового цикла, а не по положению 7, находится в соответствии с рассчитанными индексами реакционной способности ( $q_\pi$ ,  $f_\pi$ , ЭЛ, табл. 1).

Попытка проведения азосочетания 8-амино(нор)люмифлавина и 8-амино(нор)рибофлавина с хлористым *p*-нитрофенилдиазонием оказалась безуспешной, что наряду со стерическими факторами можно объяснить также понижением реакционной способности положения 9, сравнительно с 8-аминоаллоксазином (понижение граничной электронной плотности, более высокая энергия локализации, табл. 1).

## 8. Алкилирование

Алло- и изоаллоксазины алкилируются как в окисленной, так и в восстановленной форме. Алкилирование аллоксазинов иодистым метилом<sup>44, 160</sup>, диазометаном<sup>161</sup> или диметилсульфатом<sup>162</sup> в ДМФА в присутствии углекислого калия<sup>4</sup> идет по циклическим атомам азота пиримидинового цикла и приводит к 1,3-диметилпроизводным, в то время как изоаллоксазины при метилировании образуют монометилпроизводные по положению 3<sup>4, 160, 161</sup>:

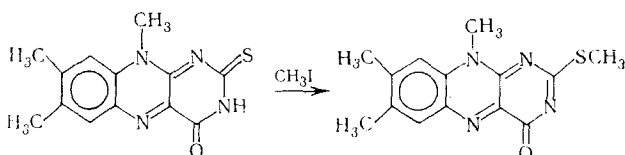


Подобным образом алкилируется и 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавин с образованием, например, 3-метил-, 3-этил- и 3-бензил-2',3',4',5'-тетра-О-ацетилрибофлавина<sup>44</sup>. 8-Амино(нор)люмифлавин метилируется иодистым метилом в щелочной среде в положение 3, при этом получается 3-метил-8-амино(нор)люмифлавин<sup>133</sup>.

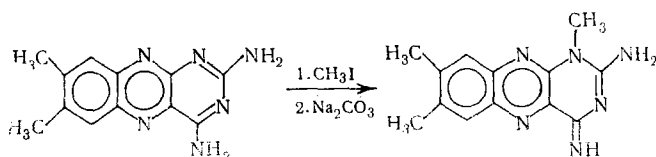
N-Окиси аллоксазинов, так же как и изоаллоксазины, не алкилируются по первому атому азота. При метилировании 10-N-окиси аллоксазина иодистым метилом или диметилсульфатом в щелочной среде получена только 10-N-окись 3-метилаллоксазина<sup>13</sup>.

Дальнейшим алкилированием моноалкилзамещенных аллоксазинов можно получить соединения с различными заместителями у N<sub>(1)</sub> и N<sub>(3)</sub><sup>111, 160</sup>.

При действии алкилирующих агентов (иодистый метил в хлороформе) 2- и 4-тиолюмифлавины алкилируются в соответствующие тиоэфиры, а в случае 2-тиопроизводного реакция идет и без катализатора основного характера<sup>5</sup>, например:



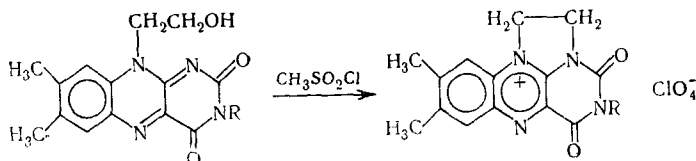
В то же время 2,4-диамино-7,8-диметилбензо[g]птеридин метилируется иодистым метилом в кипящем целлозолье с образованием четвертичной соли, которая при обработке водным раствором углекислого натрия превращается в N<sub>(1)</sub>-метилпроизводное<sup>163</sup>:



Березовский с сотр. изучили алкилирование 8-аминоалло- и 8-аминоизоаллоксазинов окисью этилена<sup>164</sup>. При оксипропилировании водной суспензии натриевых производных 8-аминоаллоксазина, 8-амино(нор)люмихрома и 8-диметиламиноаллоксазина при нагревании были получены 3-(2'-оксиэтил)-8-(2'-оксиэтиламино)аллоксазин, 3-(2'-оксиэтил)-8-(2'-оксиэтиламино(нор)люмихром и 3-(2'-оксиэтил)-8-диметиламиноаллоксазин, соответственно, а из 8-амино(нор)люмифлавина — 3-(2'-оксиэтил)-8-амино(нор)люмифлавин.

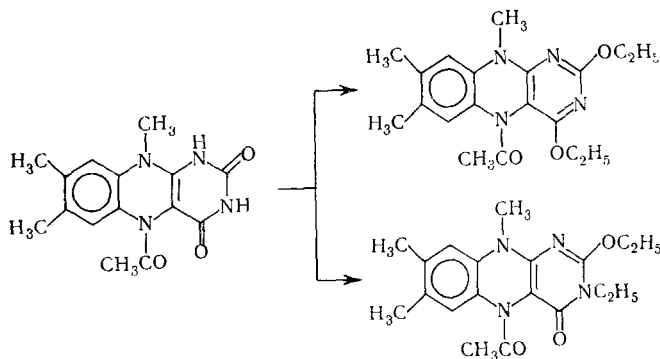
3-(2'-Оксиэтил)-8-(2'-оксиэтиламино)аллоксазин легко дезалкилируется в 70%-ной серной кислоте с образованием 8-аминоаллоксазина<sup>164</sup>.

На примере 7,8-диметил-10-(2'-оксиэтил)изоаллоксазина<sup>155</sup> установлена возможность внутримолекулярного алкилирования изоаллоксазинов в положение 1 в присутствии метансульфохлорида, ДМФА и углекислого калия с образованием четвертичных флавиновых солей.



Подобное внутримолекулярное алкилирование по  $N_{(1)}$  наблюдается и для 7,8-диметил-10-(формилметил)изоаллоксазина<sup>7, 26</sup>.

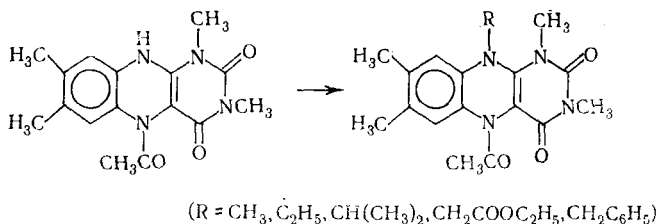
В отличие от флавинов, 1,5-дигидрофлавиин реагирует с электрофильными агентами по  $O_{(2)}$ ,  $O_{(4)}$ ,  $N_{(3)}$  и  $N_{(5)}$ . Из-за высокой чувствительности дигидроформы к кислороду алкилирование было осуществлено на стабилизированных 5-ацетил-1,5-дигидросоединениях<sup>4</sup>, которые легко алкилируются с образованием смеси 2-О-, 4-О- и 2-О-, 3-*N*-диалкилпроизводных; атом азота положения 1 дигидроизоаллоксазинов не алкилируется<sup>4</sup>.



То, что реакция алкилирования 5-ацетил-1,5-дигидролюмифлавиона не идет по первому атому азота, следует объяснить повышением электронной плотности на кислороде карбонильной группы  $C_{(2)}=O$ <sup>136</sup>, а не стерическими препятствиями со стороны заместителя в положении 10<sup>4</sup>.

Иначе ведут себя 5,10-дигидроаллоксазины. Так, при алкилировании 5-ацетил-5,10-дигидроаллоксазина в ДМФА в присутствии углекислого калия образуется сложная смесь продуктов алкилирования по  $N_{(1)}$ ,  $N_{(3)}$  или  $N_{(10)}$ , которая после кислого гидролиза и окисления содержит 1- и 3-монометилаллоксазины, 1,3-диметилаллоксазин и немного 3,10-диметилизоаллоксазина<sup>4</sup>.

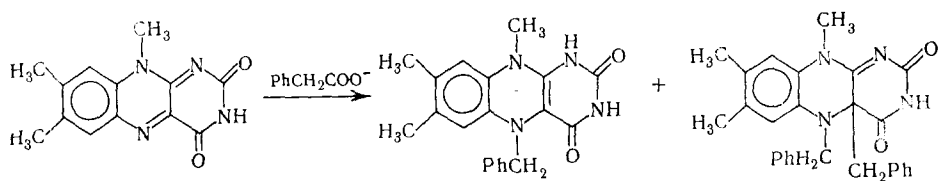
Если же исходить из 1,3-диметил-5-ацетил-5,10-дигидроаллоксазина, то происходит 10-алкилирование с образованием 1,3-диметил-10-алкил-5-ацетил-1,5-дигидроизоаллоксазинов<sup>136</sup>:



Дальнейший путь превращения этого соединения в окисленную форму изоаллоксазина не известен.

1,3,10-Триалкил-1,5-дигидрофлавины алкилируются в положение 5 галогеналкилами в среде ДМФА в присутствии углекислого калия<sup>136</sup>.

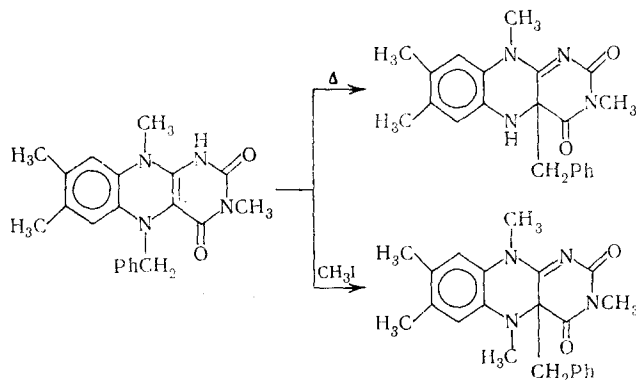
Хеммерих с сотр. изучили реакцию восстановительного фотоалкилирования флавинов при действии фенилацетат-иона, который при этом декарбоксилируется<sup>141</sup>, причем образующийся остаток вступает в положения 5 или 4а с образованием моно- и дибензилдигидропроизводных<sup>82, 107, 141</sup>:



Изолюмифлавин (6,7,10-триметилизоаллоксазин) дает только 4а-бензил-дигидропроизводное, очевидно, вследствие стерических препятствий<sup>82</sup>.

Восстановительное фотоалкилирование 5-бензиллюмифлавина при действии цикlopentадиена, тиолана и диалкилсульфидов идет также по положению 4а или 5<sup>165, 166</sup>.

5-Бензил-1,5-дигидролюмифлавин при плавлении (без доступа воздуха) перегруппировывается в 4а-бензил-4а,5-дигидролюмифлавин<sup>82</sup>. Подобная перегруппировка происходит и при метилировании иодистым метилом 5-бензил-1,5-дигидролюмифлавина, причем одновременно с перегруппировкой метилируется положение 5<sup>82</sup>. В этих же условиях изомерный 4а-бензил-4а,5-дигидролюмифлавин в положение 5 не алкилируется

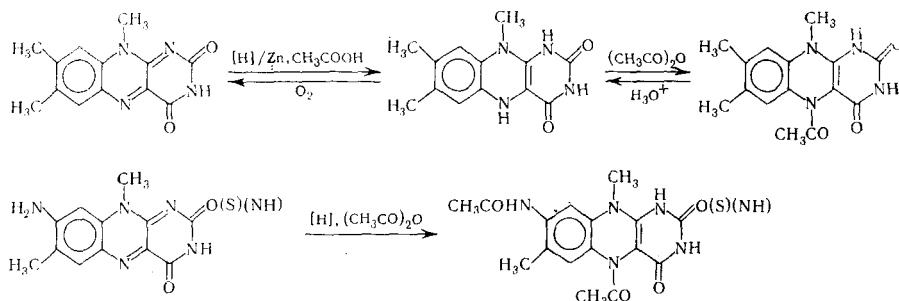


При алкилировании смеси окисленного и восстановленного флавина галогеналкилами в присутствии триэтиламина получены флавиновые радикалы, алкилированные по положению 5<sup>70</sup>.

## 9. Ацилирование

В отличие от алкилирования, ацилирование алло- и изоаллоксазинов идет селективно только для их дигидропроизводных по атому азота положения 5 и приводит к образованию 5-ацил-5,10-дигидроалло- и 5-ацил-1,5-дигидроизоаллоксазинов и их производных<sup>127</sup>. Таким путем неустойчивые и чувствительные к кислороду воздуха 5,10-дигидроалло- и 1,5-дигидроизоаллоксазины приобретают стабильную форму<sup>4</sup>.

Реакцию ацилирования осуществляют одновременно с восстановлением путем прибавления цинковой пыли к суспензии соответствующего алло- или изоаллоксазина в смеси уксусной кислоты и ангидрида органической кислоты (1:1). Так, Хеммерих с сотр. получили 5-ацетил-1,5-дигидролюмифлавин<sup>127, 133</sup>, 8-ацетиламино(нор)-5-ацетил-1,5-дигидролюмифлавин, его 2-тио- и 2-иминоаналоги,



а также 5-ацетил-5,10-дигидроаллоксазин, его 1,3-диметилпроизводное<sup>4</sup>, 5-ацетил-1,5-дигидро-2-тиолюмифлавин<sup>127</sup>, 2',3',4',5',5-пентаацетил-1,5-дигидрорибофлавин<sup>4</sup>,<sup>167</sup> и др.

Четвертичные флавиновые соли при восстановительном ацетилировании способны превращаться в соответствующие 5-ацетил-1,5-дигидропроизводные<sup>155</sup>.

Ацетильная группа в положении 5 тормозит реокисление, однако при 50° и доступе кислорода воздуха она легко гидролизуется соляной кислотой<sup>4</sup>,<sup>127</sup>,<sup>133</sup>. Аналогичным образом осуществляется также одновременное восстановление и формилирование цинковой пылью и муравьиной кислотой, в результате реакции получены 5-формил-5,10-дигидроаллоксазин, 5-формил-1,5-дигидролюмифлавин<sup>4</sup>, 5-формил-4а-бензил-4а,5-дигидролюмифлавин<sup>82</sup>.

При действии на рибофлавин хлоругольного эфира в щелочном растворе и одновременном восстановлении гидросульфитом натрия ацилируется только положение 5, причем первичный и вторичные гидроксилы рибитильной цепи не затрагиваются; реакция приводит к образованию 5-этоксикарбонил-1,5-дигидрорибофлавина<sup>167</sup>. Однако при действии на рибофлавин хлористого бензоила в щелочном растворе и одновременном восстановлении образуется 2',3',4',5',5-пентабензоил-1,5-дигидрорибофлавин<sup>167</sup>.

Как показали Брустлейн и Хеммерих, при взаимодействии 3-метиллюмифлавина с пировиноградной кислотой в аэробных условиях и облучении светом имеет место восстановительное ацетилирование с образованием 3-метил-5-ацетил-1,5-дигидролюмифлавина<sup>168</sup>. В анаэробных условиях преобладает фотовосстановление, приводящее к 3-метил-1,5-дигидролюмифлавиному<sup>168</sup>.

Подобная реакция восстановительного ацилирования наблюдается при биологическом катализе флавопротеидами, которые фотовосстанавливаются пируватом с образованием соответствующего аддукта<sup>169</sup>. Возможно, что первой стадией флавинзависимого дегидрирования является такой «перенос групп», в отличие от известного ранее «переноса частиц» (переноса гидрид-иона)<sup>168</sup>. Это предположение подтверждается тем, что некоторые флавопротеиды не обладают окислительно-восстановительными функциями<sup>170</sup>, например, оксинитрил-лиаза.

## 10. Реакции замещающих аминогрупп

Аминогруппы, расположенные в бензольной части алло- и изоаллоксазиновой системы, являются нуклеофильными центрами и могут реагировать с электрофильными агентами.

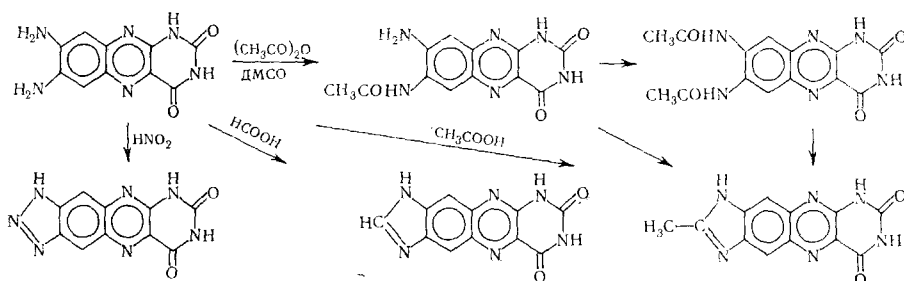
Березовский с сотр. изучили ацилирование 8-аминоаллоксазинов<sup>14</sup>. Было показано, что слабоосновная аминогруппа 8-аминоаллоксазинов в мягких условиях не реагирует с избытком хлористого ацетила. Однако



при 20-часовом нагревании этих соединений с уксусным ангидридом в среде пиридина при 60° получены их ацетильные производные. Ацилированием 8-амино- и 7-метил-8-аминоаллоксазина хлористым бензоилом и *p*-толуолсульфохлоридом были получены 8-бензоил- и 8-тозиламиноаллоксазины<sup>14</sup>.

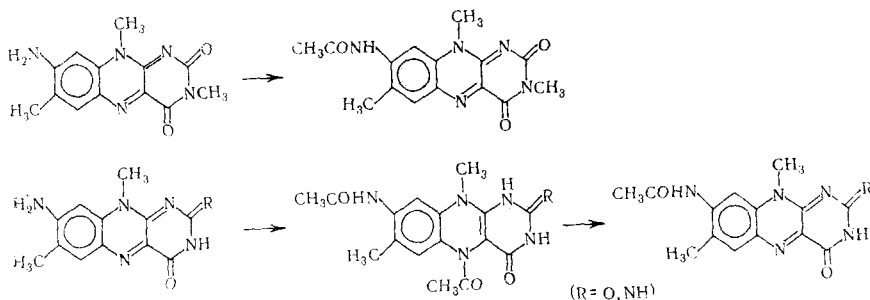
При изучении ацетилирования 7,8-диаминоаллооксазина показано ступенчатое протекание этой реакции, обусловленное различием в реакционной способности экзоциклических аминогрупп<sup>171</sup>.

Удалось подобрать условия моноацелирования 7,8-диаминоаллоксазина уксусным ангидридом в среде диметилсульфоксида (ДМСО) при 20°; моноацильному производному была приписана структура 7-ацетиламино-8-аминоаллоксазина<sup>171</sup>. При дальнейшем ацелировании образуется 7,8-диацетилдиаминоаллоксазин.



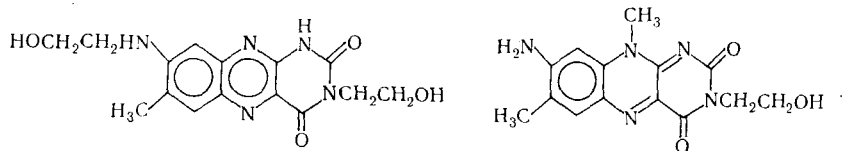
Ацетильные производные 7,8-диаминоаллоксазина при нагревании обладают сильно выраженной тенденцией к имидазольной циклизации. Соответствующие имидазолаллоксазины получают также при кипячении 7,8-диаминоаллоксазина с уксусной и муравьиной кислотами; при взаимодействии с азотистой кислотой образуется триазоло[4,5-*i*]аллоксазиновая система<sup>171</sup>.

8-Аминоизоаллоксазины ацетируются при кипячении со смесью уксусного ангидрида и уксусной кислоты в 8-ацетиламинопроизводные<sup>133</sup>, которые также могут быть получены в условиях восстановительного ацелирования с последующим селективным гидролизом ацетильной группы от пятого атома азота 1,5-дигидросоединений. Таким путем Хеммерих с сотр. получили 8-ацетиламино(нор)люмифлавин и его 2-имино- и 2-дезоксиналоги<sup>133</sup>.



Как показано, наблюдается различие в реакционной способности аминогруппы в положении 8 аллоксазинов и изоаллоксазинов к оксигенированию<sup>164</sup>. В то время как при действии окиси этилена при нагревании 8-аминогруппа натриевых производных аллоксазина и 8-норлюми-

хрома оксиэтилируется наряду с циклической иминойгруппой положения 3, у изоаллоксазинов аминогруппа остается инертной.



Большая реакционная способность аминогруппы положения 8-аллоксазинового цикла по сравнению с изоаллоксазиновым подтверждена расчетами<sup>17</sup>, которыми установлено, что значения электронной плотности (1,830) и граничной электронной плотности (0,618) на аминогруппе 8-аминоаллоксазина выше, чем у 8-аминоизоаллоксазина (1,817 и 0,254 соответственно).

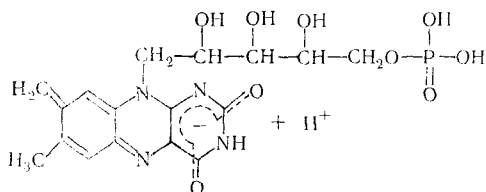
Аминогруппа в положении 9 изоаллоксазинового цикла легко диазотируется азотистой кислотой; соль диазония вступает в реакцию азосочетания и дезаминируется. Так, из 9-аминолюмифлавина в результате диазотирования и разложения соли диазония образуется люмифлавин<sup>172</sup>. Однако диазогруппу в этом соединении не удалось заменить на бром по реакции Зандмейера, возможно, вследствие пространственных затруднений<sup>172</sup>.

8-Аминоалло- и 8-аминоизоаллоксазины<sup>133, 173</sup> также диазотируются азотистой кислотой<sup>133, 149–151, 174</sup>; образующиеся соли диазония сочетаются в щелочной среде с  $\beta$ -нафтолом<sup>164, 174</sup> и в разбавленной муравьиной кислоте с некоторыми ароматическими аминами (диэтиланилином, N,N-бис- $\beta$ -хлорэтиланилином)<sup>175</sup> с образованием азосоединений.

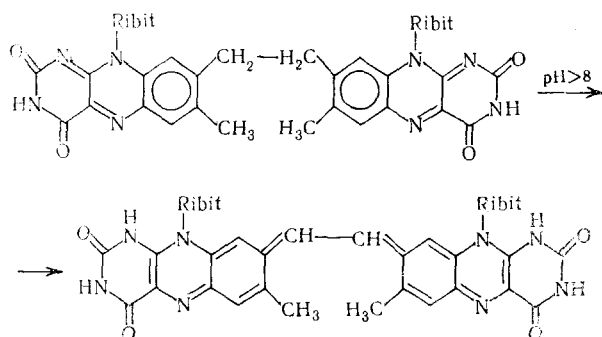
### 11. Реакции метильной группы положения 8

До последнего времени было неясно, какое биологическое значение имеет наличие в молекуле рибофлавина и его коферментов (ФМН и ФАД) двух орто-расположенных метильных групп в бензольной части молекулы. Хотя удаление метильных групп из флавина связано с относительно небольшими стерическими и электронными изменениями в молекуле, оно в то же время характеризуется резким уменьшением или полной потерей биокаталитической активности<sup>176</sup>. Замена этих групп на иные заместители ( $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHRibit}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{Cl}$  и др.) приводит к созданию ингибиторов некоторых реакций метаболизма<sup>177–179</sup>.

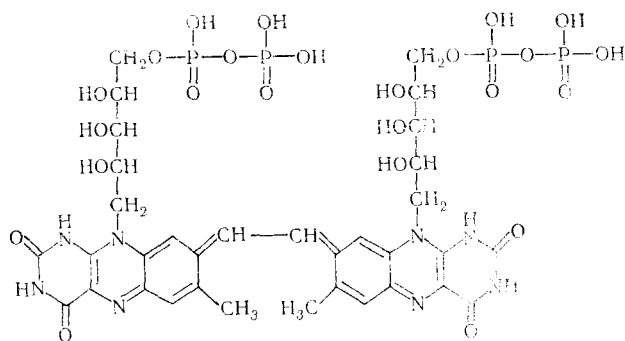
Метильная группа в положении 8 изоаллоксазинового цикла характеризуется кислотными свойствами, подобно свойствам нитролуола или метилбензохинона<sup>18</sup>. При pH 6,8–6,9 и 90–95° в  $\text{D}_2\text{O}$  протоны метильной группы ФМН положения 8 обмениваются на дейтерий<sup>180</sup>, что объяснено возможностью образования аниона с сильно делокализованным зарядом; образование такого аниона, позволяющее компенсировать потерю ароматичности в бензольном цикле, невозможно в случае депротонизации метильной группы положения 7, например:



Подвижность атома водорода метильной группы положения 8 проявляется в реакциях димеризации флавина. Хеммерих, Прис и Эрленмейер установили, что в безводных щелочных условиях ( $\text{BaO}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в ДМФА) флавины необратимо димеризуются<sup>148</sup> аналогично окислению нитротолуолов в стильбены<sup>18</sup>. При этом  $\text{CH}_3$ -группы положения 8 двух молекул окисляются и димеризуются с образованием  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  группы, а флавиновые соединения восстанавливаются — получается дифлавиндирадикал<sup>18</sup>, который реагирует с еще одной молекулой флавина с образованием флавосемихинонаниона и «дифлавинового радикала»<sup>69</sup>. Этот радикал при доступе кислорода воздуха окисляется в стабильный бензохиноидный бис-рибофлавин<sup>148</sup>.

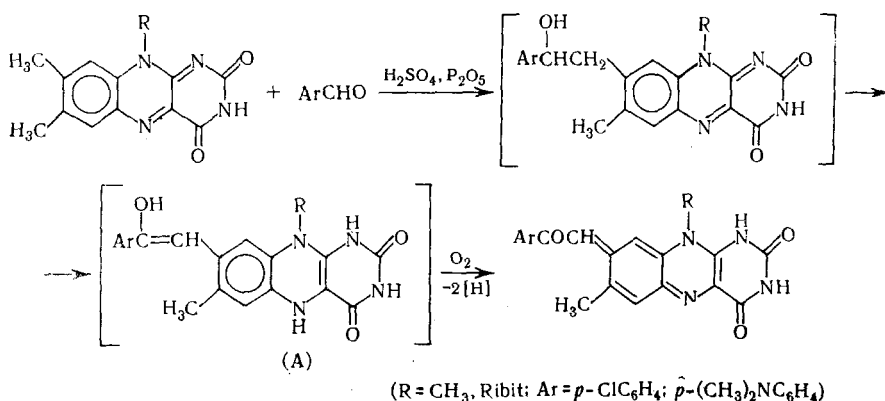


Следует отметить, что при фосфорилировании рибофлавина в условиях сильной дегидратации (ортофосфорная кислота и фосфорный ангидрид) наряду с образованием фосфорных эфиров флавинов обычного строения также частично имеет место аналогичная окислительная димеризация по 8- $\text{CH}_3$ -группе с образованием бензохиноидного бис-рибофлавин-5'-фосфата<sup>181</sup>:



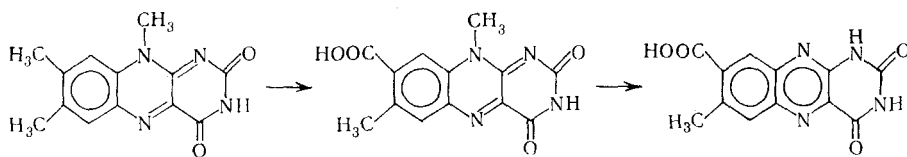
В спектрах ПМР бензохиноидного бис-рибофлавин-5'-дифосфата и бензохиноидного бис-рибофлавина отмечается отсутствие резонансного сигнала для протонов метильных групп при  $\text{C}_{(8)}$ -атоме и сохранение сигнала для протонов метильных групп при  $\text{C}_{(7)}$ -атоме<sup>181</sup>, что свидетельствует об изменении структуры молекулы именно по 8- $\text{CH}_3$ -группам. Как оказалось, бензохиноидный бис-рибофлавин-5'-дифосфат и бензохиноидный бис-рибофлавин угнетают процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс.

В молекуле флавина 8-CH<sub>3</sub>-группу можно рассматривать как нуклеофильный центр. Повышенная реакционная способность метильной группы положения 8 флавинов, по сравнению с 7-CH<sub>3</sub>-группой, проявляется в ее способности взаимодействовать с электрофильными агентами (активный карбонил, нитрозил и др.). Так, флавины в безводных условиях (концентрированная серная кислота и фосфорный ангидрид) вступают в реакцию Кневенателя с *p*-хлорбензальдегидом и *p*-диметилбензальдегидом, образуя соответствующие 8- $\alpha$ -производные<sup>148, 182</sup>:



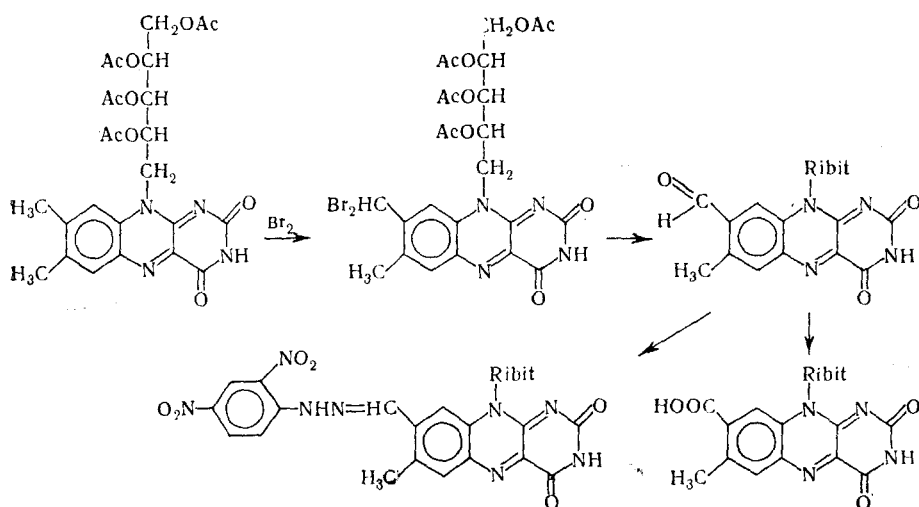
Возможно, что эта реакция протекает через промежуточное образование альдоля, который в результате внутримолекулярного окислительно-восстановительного превращения переходит в соединение типа (A), последнее, окисляясь на воздухе, образует соответствующее 8- $\alpha$ -производное флавина<sup>182</sup>.

Реакционная способность 8-CH<sub>3</sub>-группы флавинов проявляется и при взаимодействии люмифлавина с азотистой кислотой в кипящей уксусной кислоте с образованием 8-карбокси(нор)люмифлавина<sup>148</sup>:



Эта кислота неустойчива и в теплом щелочном растворе легко превращается в 7-метил-8-карбоксиаллоксазин.

Мак Кормик осуществил бромирование метильной группы положения 8 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина избытком брома в пиридине и диоксане, реакция привела к образованию 8- $\alpha$ -дибром-2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина, который при кипячении в 6 *N* соляной кислоте гидролизовался в 8-формил(нор)рибофлавин. Это соединение окисляется разбавленным водным раствором марганцевокислого калия или иодной кислотой в 8-карбокси(нор)рибофлавин. Конденсация 8-формил(нор)рибофлавина с 2,4-динитрофенилгидразином привела к образованию соответствующего гидразона<sup>183</sup>:



Хеммерих с сотр. осуществили монобромирование 2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина по 8-CH<sub>3</sub>-группе при непродолжительном действии молекулярным бромом в диоксане в присутствии каталитических количеств перекиси дибензоила и получили 8-α-монобром-2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавин<sup>184</sup>.

Изучение реакционной способности замещающих групп бензольного цикла изоаллоксазинов, в частности метильной группы положения 8 рибофлавина<sup>148, 183</sup>, сыграло решающую роль в установлении структуры нового флавинового кофермента сукцинатдегидрогеназы (СД) в 1970 г. двумя группами исследователей — Гизла, Гартманн и Хеммерих<sup>184</sup> в ФРГ и Волькер и Зингер<sup>185</sup> в США.

Ранее Кирни, Зингер и Ванг установили, что флавин, содержащийся в качестве простетической группы в сукцинатдегидрогеназе из бычьего сердца<sup>186</sup> и сердца свиньи<sup>187</sup>, не идентичен ФМН или ФАД<sup>188, 189</sup> и в отличие от них ковалентно связан с одной из аминокислот белка<sup>190</sup>.

Обычными методами (обработка сильными кислотами на холоду, кипячение в воде, 50%-ном этаноле) не удавалось отделить флавин сукцинатдегидрогеназы, только воздействие протеолитических ферментов (трипсина, химотрипсина) приводило к выделению флавинового пептидного производного, названного СД-ФАД, содержащего 1 моль 5-адениловой кислоты, 1 моль D-рибозы и 2 атома фосфора, связанных пирофосфатной связью<sup>190</sup>. Динуклеотид отличался от ФАД гипсохромным сдвигом УФ-полосы поглощения (с 375 до 350 нм) и некоторыми другими свойствами<sup>190</sup>.

Непродолжительным гидролизом в 1 N соляной кислоте при 100° или под действием нуклеотидпирофосфорилазы СД-ФАД был превращен в АМФ и СД-ФМН.

Гидролиз СД-ФАД (6 N HCl, 95°, 18 часов) приводит к производному рибофлавина (СД-рибофлавино) и к 6—7 аминокислотам: аланину, серину, глутаминовой кислоте, валину и треонину со второй молекулой серина в качестве конечного аминокислотного остатка<sup>190</sup>. Рибитильная природа заместителя в положении 10 была установлена периодатным окислением<sup>190</sup>.

Выяснено, что ковалентная связь флавина с аминокислотой не может идти по положениям 1, 2, 3, 4, 5 и 10 изоаллоксазинового цикла по следующим причинам. При щелочном гидролизе СД-ФАД образуется мочеви-

на, что исключает замещения по положениям 1 и 3<sup>18</sup>. Поскольку удаление рибитильной боковой цепи в результате щелочного фотолиза<sup>191</sup> не разрывает связи с аминокислотой в оставшемся веществе, положение 10 также было исключено<sup>18</sup>. Все возможные замещения на алкил-, арил-, ацил-, алкокси-, amino- и меркаптогруппы в положениях 2, 4 и 5 обратимы в условиях гидролиза или слабого окисления<sup>5, 128</sup>.

Показано также, что сверхтонкая структура ЭПР-спектра радикала «СД-флавина» отличается от сверхтонкой структуры радикала рибофлавина, что позволило исключить положения 7 и 9, характеризующиеся низкими спиновыми плотностями<sup>189</sup>. Было высказано предположение, что присоединение к аминокислоте осуществляется по метильной группе положения 8<sup>191</sup>, что соответствовало также данным спектра электронно-ядерного двойного резонанса<sup>192</sup>.

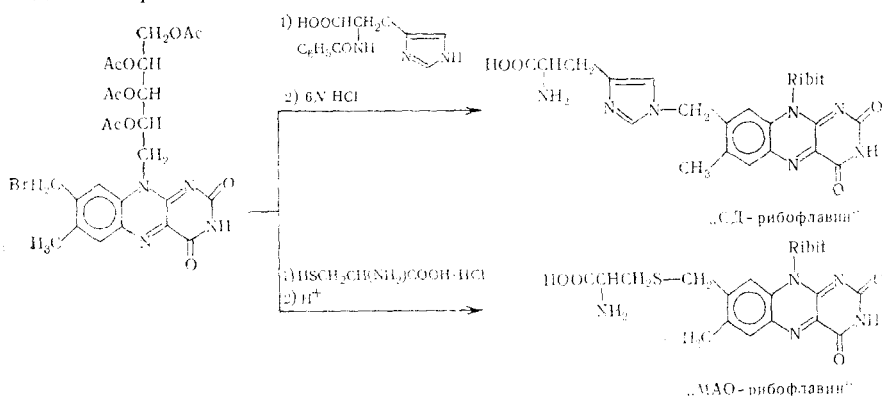
При жестком кислотном гидролизе «СД-рибофлавина» в атмосфере гелия с 80%-ным выходом был выделен гистидин. Та же аминокислота выделяется при нейтральном фотолизе и восстановительном расщеплении СД-ФАДа водородом над палладием, т. е. в условиях расщепления 3-бензилгистидина<sup>185</sup>.

По аналогии с бензилированием гистидина по N<sub>(3)</sub>, а также на основании стерических соображений высказано предположение о связи флавина с гистидином по N<sub>(3)</sub><sup>185</sup>.

Полученные данные позволили сделать вывод, что «СД-рибофлавин» структурно является 8-α- (1- или 3-*L*-гистидил) рибофлавином<sup>183</sup>.

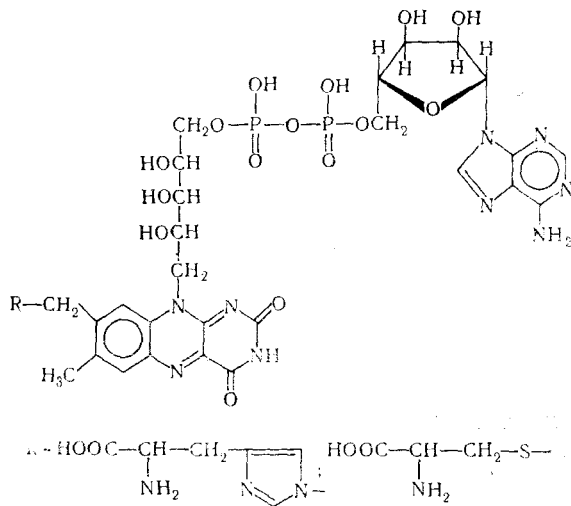
8-α-(*N-L*-гистидил)рибофлавин, полученный прямым синтезом — путем нагревания 8-α-бром-2',3',4',5'-тетраацетилрибофлавина с бензилгистидином в безводном ДМФА с последующим гидролизом 6 *N* соляной кислотой, оказался спектрально и хроматографически идентичным «СД-рибофлави́ну»<sup>184</sup>.

Далее было показано, что недиссоциирующий кофактор моноаминоксидазы (МАО) является не ФАДом, а его производным<sup>193, 194</sup>. При ступенчатом гидролизе моноаминоксидазы были выделены мононуклеотид и «МАО-флавин» — рибофлавинолигопептид, содержащий цистенин, серин, тирозин и 2 мол. глицина. При дальнейшем гидролизе этого соединения был выделен 8-α-(*S*-цистеинил)рибофлавин<sup>195, 196</sup>, который Гизла и Хеммерих получили также синтетическим путем при взаимодействии 8-α-бромтетраацетилрибофлавина с хлоргидратом цистенина и последующим деацилированием<sup>197</sup>.



Итак, тонкое и глубокое изучение химического поведения алло- и изоаллоксазиновых соединений привело к установлению необычной структуры новых недиссоциирующих флавиновых коферментов сукцинатде-

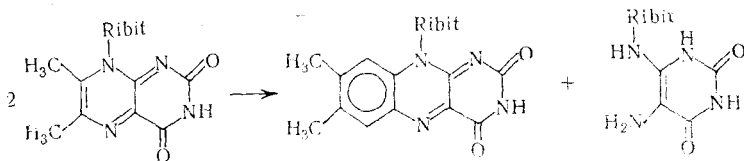
гидрогеназы — 8  $\alpha$  (*N-L*-гистидил) ФАД<sup>184, 185</sup> и моноаминоксидазы — 8  $\alpha$ - (*S*-цистеинил) ФАД<sup>196, 197</sup>, флавин которых ковалентно связан с аминокислотой по 8-CH<sub>2</sub>-группе; тем самым было доказано ранее высказанное предположение о возможности связи такого типа<sup>198, 199</sup>:



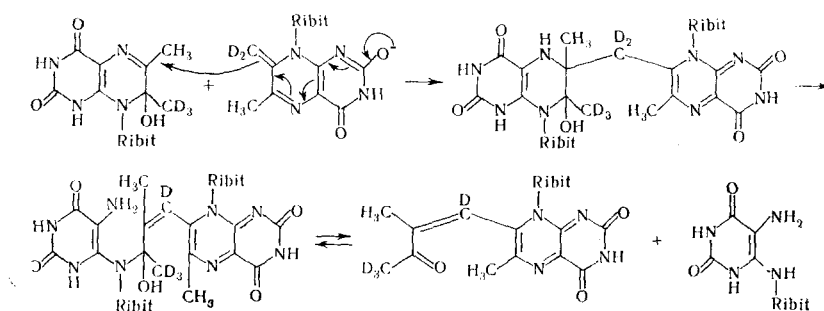
Таким образом, реакционная неравноценность метильных групп положений 7 и 8 молекулы флавина тонко используется в природе для построения при участии специфического фермента флавиновой протетической группы сукцинатдегидрогеназы и моноаминоксидазы.

Интересно отметить, что метильные группы рибофлавина генетически связаны с метильными группами 6,7-диметил-8-(1'-*D*-рибитил) люмазина в процессе биосинтеза.

В биосинтезе рибофлавина микроорганизмами *Eremothecium ashbyii* и *Ashbya gossypii*<sup>200</sup> используется подвижность атомов водорода метильных групп люмазина, две молекулы которого, как установил Плаут<sup>201, 202</sup>, превращаются в одну молекулу рибофлавина. Эту же реакцию осуществили Крессвел, Нельсон и Вуд *in vitro* — они показали, что 6,7-диметил-8-(1'-*D*-рибитил) люмазин в буферном растворе при pH 7,3 и нагревании под азотом конденсируется в рибофлавин с выходом 55% в отсутствие фермента или внешнего источника углерода<sup>203</sup>:



На основании изучения реакции конденсации дейтерированного люмазина в рибофлавин был предложен возможный механизм этой реакции, который заключается в том, что первоначально идет атака карбаниона по положению 6 гидратированного птеридина с образованием карбиноламина, находящегося в равновесии с кетоном, и, наконец, образование соответствующего дейтерорибофлавина<sup>204, 205</sup>.



Плаут с сотр. предложили также и другой механизм неферментативного и ферментативного синтеза рибофлавина из люмазина<sup>206–208</sup>.

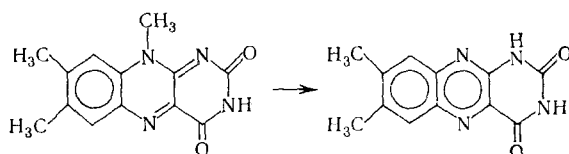
## 12. Другие реакции

Недавно показано, что при фотовозбуждении видимым светом в анаэробных условиях в кислой среде ( $\text{pH} < 5$ ) люмихром гидроксيليруется в ароматическое ядро, возможно, в положение 9, с образованием 9(6)-оксильюмихрома<sup>142</sup>.

Одна из важных реакций — фотолиз рибофлавина и других флавинов, протекает в зависимости от условий, с частичным или полным отщеплением боковой цепи положения 10; полное дезалкилирование приводит к превращению изоаллоксазинов в аллоксазины. Исследования фотолиза рибофлавина освещены в обзорах<sup>1, 2, 88, 209</sup>.

Работы последних лет посвящены в основном идентификации промежуточных продуктов фотолиза флавинов и изучению его механизма<sup>210–217</sup>.

Следует отметить, что свет не является специфическим катализатором расщепления изоаллоксазинов в аллоксазины<sup>4</sup>. Эта реакция катализируется также ионами металлов, такими, как  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ <sup>218, 219</sup>, в некоторых случаях основаниями<sup>220</sup> и реагентами на карбонильную группу<sup>4</sup>, четвертичными аминами, тиоэфирами<sup>87</sup> и др. Так, при нагревании люмифлавина в уксусной кислоте, содержащей гидроксиламин, в течение 120 часов получен люмихром<sup>4</sup>:



Обратный переход от аллоксазинов к изоаллоксазинам неизвестен.

Щелочное или кислотное деструктивное расщепление алло- и изоаллоксазинов с превращением их в хиноксалины достаточно подробно изучено и рассмотрено ранее<sup>1, 2, 209</sup>. Эта реакция широко применяется для установления структуры различных производных алло- и изоаллоксазина<sup>118, 119, 221–223</sup>.

Флавины обладают способностью образовывать комплексы с различными органическими соединениями, как правило, в соотношении 1:1<sup>224</sup>. К таким соединениям относятся фенолы<sup>225</sup>, индолы<sup>226, 227</sup>, пурины<sup>228, 229</sup>, бензойная кислота<sup>230</sup>, аминокислоты<sup>231, 232</sup> и др. Имеются данные, что тирозиновый аминокислотный остаток некоторых флавопротеидов включается в комплексообразование с флавином<sup>233</sup>. Возможно, что комплек-

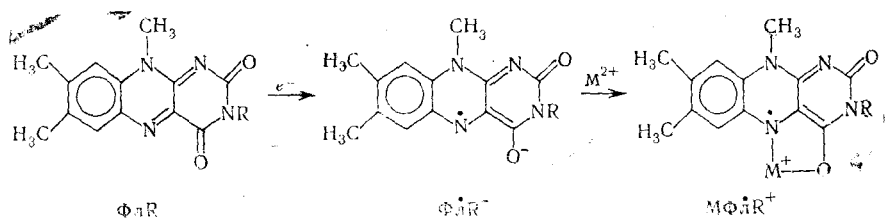


сообразование между флавином и ароматическими аминокислотами и является основной связью между протетической группой и апоферментом во многих флавопротеидах<sup>230</sup>.

Для изучения характера связи флавинов с ароматическими аминокислотами Мак Кормик с сотр.<sup>234–237</sup> использовал в качестве модельных соединений флавинилпептиды, полученные при взаимодействии метиловых эфиров ароматических аминокислот (*L*-триптофана, *L*-тирозина и др.) с 3- и 10-карбоксиалкильными производными флавинов.

С солями некоторых металлов рибофлавин образует нерастворимые интенсивно окрашенные хелатные комплексы, по-видимому, по атому азота положения 5 и кислороду карбонильной группы положения 4. В качестве металлов в таких комплексах участвуют:  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^+$ ,  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ <sup>238, 239</sup>. Хелатные комплексы с одновалентными металлами более устойчивы, чем с двухвалентными. Следует отметить, что биокаталитическая активность многих флавиновых ферментов связана с содержащимися в них катионами металлов, такими, как железо, молибден, медь или марганец<sup>240</sup>.

Флавины не проявляют заметного сродства к катионам *d*-металлов с постоянной валентностью<sup>238, 241</sup>, что, по-видимому, объясняется низкой основностью атома азота в положении 5 и высокой энергией енолизации карбонила в положении 4<sup>23</sup>. Однако в виде флавосемихинонов, в частности анион-радикалов, они приобретают специфическое сродство к катионам металлов<sup>242</sup>. В физиологических условиях в полувосстановленном флавине анион-радикалы присутствуют в небольшом количестве вследствие диспропорционирования. Но в присутствии катионов *d*-металлов равновесие сдвигается в сторону образования радикалов из-за комплексообразования<sup>243</sup>. В условиях эксперимента — в неводном ДМФА в присутствии стехиометрического количества сильного основания, например трет.-бутилата калия, образуется 100% флавинанион-радикала<sup>244</sup>. Реакция образования хелатного комплекса может быть представлена следующей схемой<sup>245</sup>.



Дальнейшее изучение превращений алло- и изоаллоксазинов, исследование реакционной способности этих соединений, выяснение зависимости между параметрами электронной структуры различных положений флавиновой молекулы и ее взаимодействием с апоферментом, биохимической роли флавиновых радикалов, комплексов флавинов с аминокислотами и металлами, а также исследования в других направлениях несомненно будут способствовать глубокому развитию химии соединений алло- и изоаллоксазинового ряда и раскрытию сущности флавопротеидного катализа.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Березовский, Т. В. Еременко, Усп. химии, **32**, 671 (1963).
2. J. Lambouy, в книге Heterocyclic compounds, ed. by R. Elderfield, v. 9, p. 118, N. Y., 1967.
3. Ю. Н. Шейнкер, Докт. диссерт., ИНЭОС АН СССР, Москва, 1960.
4. P. Hemmerich, B. Prijs, H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta, **43**, 372 (1960).

5. F. Müller, P. Hemmerich, Там же, **49**, 2352 (1966).
6. F. Müller, W. Walker, P. Hemmerich, Там же, **49**, 2365 (1966).
7. K. Dudley, A. Ehrenberg, P. Hemmerich, F. Müller, Там же, **47**, 1354 (1964).
8. B. Grabe, Biopolymers Symposia, New York, 1964, № 1, 238.
9. K. Nishimoto, Bull. Chem. Soc. Japan, **40**, 2493 (1967).
10. P. Hemmerich, C. Veeger, H. C. S. Wood, Ang. Chem., **77**, 699 (1965).
11. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, Т. П. Фетисова, И. М. Кустанович, Н. А. Полякова, ЖОХ, **38**, 2449 (1968).
12. J. L. Fox, K. Nishimoto, L. S. Forster, Biochim. biophys. acta, **109**, 626 (1965).
13. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, ДАН, **171**, 1101 (1966).
14. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, ЖОХ, **38**, 2440 (1968).
15. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, Н. Д. Григорьева, В. З. Мельников, Н. И. Кириллова, ДАН, **198**, 829 (1971).
16. Л. С. Тульчинская, Н. Б. Карлстедт, Н. А. Полякова, В. М. Березовский, ЖОХ, **38**, 2457 (1968).
17. Л. С. Тульчинская, Н. А. Полякова, Т. Н. Ульянова, Г. Г. Дворянцева, В. М. Березовский, Там же, **40**, 1852 (1970).
18. A. Ehrenberg, P. Hemmerich, в книге Biological Oxidations, ed. by T. P. Singer, N. Y., 1968, стр. 239.
19. L. Michaelis, M. P. Schubert, C. V. Smithe, J. Biol. Chem., **116**, 587 (1936).
20. R. Kuhn, G. Moruzzi, Ber., **67**, 888 (1934).
21. E. Walaas, O. Walaas, Acta chem. Scand., **10**, 122 (1956).
22. Т. П. Фетисова, В. М. Березовский, ЖОХ, **40**, 2713 (1970).
23. P. Bamberg, P. Hemmerich, Helv. chim. acta, **44**, 1001 (1961).
24. A. Albert, Biochem. J., **54**, 646 (1953).
25. P. Cerletti, A. Rossi-Fanelli, J. Vitaminol. (Osaka), **4**, 71 (1958).
26. C. H. Suelter, D. E. Metzler, Biochim. biophys. acta, **44**, 23 (1960).
27. N. Tanaka, T. Ashida, J. Sasada, N. Kakudo, Bull. Chem. Soc. Japan, **40**, 1739 (1967).
28. N. Tanaka, T. Ashida, J. Sasaka, N. Kakudo, Там же, **42**, 1546 (1969).
29. C. J. Fritchie, B. L. Trus, Chem. Commun., **1968**, 1486.
30. B. L. Trus, C. J. Fritchie, Acta Cryst., **B25**, 1911 (1969).
31. R. B. Bates, T. C. Sneath, D. N. Stephen, J. Org. Chem., **35**, 1625 (1970).
32. C. A. Langhoff, C. J. Fritchie, J. Chem. Soc. (D), **1970**, 21.
33. G. Karremann, Bull. Math. Biophys., **23**, 55 (1961).
34. J. L. Fox, S. P. L. Laberge, K. Nishimoto, B. S. Forster, Biochim. biophys. acta, **136**, 544 (1967).
35. P. S. Song, J. Phys. Chem., **72**, 536 (1968).
36. P. S. Song, Ann. New Acad. Sci., **158**, 410 (1969).
37. Мамору Камиya, Yukio Akahori, Chem. pharm. Bull., **18**, 157 (1970).
38. М. Е. Дяткина, ДАН, **59**, 517 (1948).
39. G. Tollin, Biochemistry, **7**, 1720 (1968).
40. Т. П. Фетисова, И. Л. Володарский, В. З. Мельников, С. Ф. Дымова, Ж. К. Торосян, И. М. Кустанович, В. М. Березовский, ЖОХ, **41**, 2305 (1971).
41. E. Lippert, H. Prigge, Ztschr. Electrochem., **64**, 662 (1960).
42. W. Clark, Oxydation-reduction potentials of organic systems, Baltimore, 1960, стр. 441.
43. R. Kuhn, P. György, T. Wagner-Jauregg, Ber., **66**, 317, 576, 1034 (1933).
44. P. Hemmerich, Helv. chim. acta, **47**, 464 (1964).
45. A. Ehrenberg, L. E. G. Eriksson, Arch. biochem. biophys., **105**, 453 (1964).
46. O. Manousek, J. Jiricka, Chem. Tech., **13**, 169 (1961).
47. S. V. Tatwawadi, K. S. V. Santhanam, A. J. Bard, Electroanal. Chem., **17**, 411 (1968).
48. H. Beinert, в книге The Enzymes, ed. by P. D. Bayer, H. Lardy, K. Myrbäck, N. Y., 1960, T. II, стр. 339.
49. B. Grabe, Biochim. biophys. acta, **30**, 560 (1958).
50. L. Lindberg, B. Grabe, H. Löw, P. Siekvitz, L. Ernster, Acta chem. Scand., **12**, 598 (1958).
51. L. E. G. Eriksson, A. Ehrenberg, Там же, **18**, 1437 (1964).
52. J. P. Malrieu, B. Pullman, Theoret. chim. acta, **2**, 302 (1964).
53. R. Norrestam, P. K. Kierkegaard, B. Steusland, L. Torbjörnsson, J. Chem. Soc. (D), **1969**, 1250.
54. R. Norrestam, M. Glehn, L. O. Hagman, P. Kierkegaard, Acta chem. Scand., **23**, 2199 (1969).
55. P. Kierkegaard, O. Rönquist, P. E. Werner, Tetrahedron Letters, **53**, 4667 (1969).

56. P. Hemmerich, *FEBS Letters*, **8**, 69 (1970).
57. G. P. Burn, I. R. P. O'Brien, *Biochim. biophys. acta*, **31**, 328 (1959).
58. G. Penzer, G. Radda, *Quart. Rev.*, **21**, 43 (1967).
59. R. Beinert, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 5323 (1956).
60. H. Beinert, *J. Biol. Chem.*, **225**, 465 (1957).
61. Q. H. Gibson, J. W. Hastings, *Biochem. J.*, **83**, 368 (1962).
62. Q. H. Gibson, V. Massey, N. U. Atherton, Там же, **85**, 369 (1962).
63. E. M. Kossower, в книге *Flavins and Flavoproteins*, ed. by E. C. Slater; Amsterdam, 1966, стр. 1.
64. G. Palmer, V. Massey, см. <sup>18</sup>, стр. 263.
65. A. Ehrenberg, *Arkiv Kemi*, **19**, 97 (1961).
66. A. Ehrenberg, в книге *Electronic Aspects of Biochemistry*, ed. by B. Pullman, N. Y., 1964, стр. 379.
67. L. E. G. Eriksson, J. S. Hyde, A. Ehrenberg, *Biochim. biophys. acta*, **192**, 211 (1969).
68. A. Ehrenberg, L. E. G. Eriksson, F. Müller, в книге *Flavins and Flavoproteins*, ed. by E. C. Slater, Amsterdam, 1966, стр. 36.
69. A. Ehrenberg, F. Müller, P. Hemmerich, *Eur. J. Biochem.*, **2**, 286 (1967).
70. F. Müller, P. Hemmerich, G. Palmer, V. Massey, Там же, **14**, 185 (1970).
71. G. K. Radda, M. Calvin, *Biochemistry*, **3**, 384 (1964).
72. T. P. Singer, E. B. Kearney, *J. Biol. Chem.*, **183**, 409 (1950).
73. J. L. Fox, J. Tollin, *Biochemistry*, **5**, 3865 (1966).
74. I. M. Gascoigne, G. K. Radda, *Biochim. biophys. acta*, **131**, 498 (1967).
75. I. M. Gascoigne, G. K. Radda, *Chem. Commun.*, **1965**, 211.
76. G. D. Weatherby, D. O. Carr, *Biochemistry*, **9**, 351 (1970).
77. M. J. Gibian, D. V. Winkelman, *Tetrahedron Letters*, **44**, 3901 (1969).
78. G. K. Radda, *Biochem. biophys. acta*, **112**, 448 (1966).
79. P. Byrom, J. H. Turnbull, *Photochem. Photobiol.*, **6**, 125 (1967); **8**, 243 (1968).
80. K. Enns, W. H. Burgess, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5765 (1965).
81. W. R. Frisell, C. W. Chung, C. G. Mackenzie, *J. Biol. Chem.*, **234**, 1297 (1959).
82. W. H. Walker, P. Hemmerich, V. Massey, *Helv. chim. acta*, **50**, 2269 (1967).
83. G. R. Penzer, G. K. Radda, *Biochem. J.*, **109**, 259 (1968).
84. G. D. Weatherby, D. O. Carr, *Biochemistry*, **9**, 344 (1970).
85. G. Strauss, W. J. Nickerson, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 3187 (1961).
86. W. J. Nickerson, G. Strauss, Там же, **82**, 5007 (1960).
87. L. P. Vernon, *Biochim. biophys. acta*, **36**, 177 (1959).
88. B. Holmström, *Arkiv. Kemi*, **22**, 329 (1964).
89. W. M. More, J. T. Spence, T. A. Raymond, S. D. Colson, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 3367 (1963).
90. Sirota V., Ljalin G., *Studia Biophysica*, **20**, 1 (1970).
91. Сирота В. Г., Лялин Г. Н., Комаров В. С., *Биофизика*, **15**, 1007 (1970).
92. Г. Н. Лялин, В. Г. Сирота, В. А. Котельников, Там же, **16**, 1120 (1971).
93. B. Holmström, G. Oster, *Bull. soc. chim. Belges*, **71**, 869 (1962).
94. B. Natanson, M. Brody, S. Brody, S. B. Brody, *Photochem. Photobiol.*, **6**, 177 (1967).
95. B. Holmström, G. Oster, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 1867 (1961).
96. L. R. Tetler, J. Turnbull, *J. Phys. Chem.*, **66**, 2447 (1962).
97. A. Bowd, P. Byrom, J. B. Hudson, J. H. Turnbull, *Photochem. Photobiol.*, **8**, 1 (1968).
98. P. S. Song, D. E. Metzler, Там же, **6**, 691 (1967).
99. P. S. Song, T. A. Moore, Там же, **7**, 113 (1968).
100. T. Shiga, L. H. Piette, Там же, **3**, 213 (1964); **4**, 769 (1965).
101. J. M. Lhoste, A. Haug, P. Hemmerich, *Biochemistry*, **5**, 3290 (1966).
102. W. E. Kurtin, P. S. Song, *Photochem. Photobiol.*, **9**, 127 (1969).
103. P. S. Song, W. E. Kurtin, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4248 (1967).
104. P. S. Song, *Intern. J. Quant. Chem.*, **3**, 303 (1969).
105. P. S. Song, *Photochem. Photobiol.*, **7**, 311 (1968).
106. З. П. Грибова, Л. П. Каюшин, *Усп. химии*, **41**, 287 (1972).
107. W. H. Walker, P. Hemmerich, V. Massey, *Eur. J. Biochem.*, **13**, 258 (1970).
108. O. Gawron, A. J. Glaid, J. Francisco, T. P. Fondy, *Nature*, **197**, 1270 (1963).
109. K. H. Dudley, P. Hemmerich, *J. Org. Chem.*, **32**, 3049 (1967).
110. F. Müller, V. Massey, C. Heirmann, P. Hemmerich, J. M. Lhoste, D. C. Gould, *Eur. J. Biochem.*, **9**, 392 (1969).
111. F. Müller, K. H. Dudley, *Helv. chim. acta*, **54**, 1487 (1971).
112. V. Massey, B. Curti, F. Müller, S. G. Mayhew, *J. Biol. Chem.*, **243**, 1329 (1968).
113. P. Karrer, R. Ostwald, *Rec. trav. chim.*, **57**, 500 (1938).

114. H. Fall, H. Petering, J. Am. Chem. Soc., 78, 377 (1956); Ам. пат. 2825729 (1958); С. А., 52, 18477 (1958).
115. Англ. пат. 721426; С. А., 50, 2687 (1956).
116. H. G. Petering, G. J. Giessen, J. Pharm. Sci., 52, 1192 (1963).
117. H. G. Petering, Ам. пат. 2973359 (1961); РЖХим., 1962, 3Л313.
118. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, ДАН, 168, 577 (1966).
119. В. М. Березовский, Г. Д. Глебова, Н. В. Федорова, Ж. И. Аксельрод, ХГС, 1966, 279.
120. А. С. Елина, ЖОХ, 34, 2809 (1964).
121. Б. Пюльман, А. Пюльман, Квантовая биохимия, «Мир», М., 1965, стр. 614.
122. В. М. Березовский, Ж. И. Аксельрод, ДАН, 180, 607 (1968).
123. H. Goldner, G. Dietz, E. Carstens, Lieb. Ann., 694, 142 (1966).
124. H. Goldner, E. Carstens, J. Pract. Chemie, 32, 43 (1966).
125. H. Goldner, G. Dietz, E. Carstens, Ztschr. Chem., 4, 454 (1964).
126. P. Hemmerich, S. Fallab, H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta, 39, 1242 (1956).
127. P. Hemmerich, H. Erlenmeyer, Там же, 40, 180 (1957).
128. F. Müller, P. Hemmerich, H. Erlenmeyer, Experientia, 18, 498 (1962).
129. В. М. Березовский, Л. М. Мельникова, ЖОХ 31, 3827 (1961); Авт. свид. СССР 177922; Бюлл. изобр., 1961, № 9, 25.
130. В. М. Березовский, Т. В. Еременко, ЖОХ, 31, 3831 (1961).
131. Дж. Калверт, Дж. Питтс, Фотохимия, «Мир», М., 1968, стр. 483.
132. P. Bamberg, P. Hemmerich, H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta, 43, 395 (1960).
133. P. Hemmerich, B. Prijs, H. Erlenmeyer, Там же, 42, 1604 (1959).
134. Q. H. Gibson, J. W. Hastings, Biochem. J., 83, 368 (1962).
135. H. Gutfreund, Там же, 74, 17F (1960).
136. K. H. Dudley, P. Hemmerich, Helv. chim. acta, 50, 355 (1967).
137. W. Berends, J. Posthume, J. S. Sussenbach, M. I. X. Mager, см. <sup>65</sup>, стр. 21.
138. H. I. X. Mager, W. Berends, Rec. trav. chim., 84, 1329 (1965); Biochim. biophys. acta, 118, 440 (1966).
139. H. I. X. Mager, R. Addink, W. Berends, Rec. trav. chim., 86, 833 (1967).
140. V. Massey, F. Müller, R. Feldberg, M. Schuman, P. Sullivan, L. G. Howell, S. G. Mayhew, R. G. Matthews, G. P. Foust, J. Biol. Chem., 244, 3999 (1969).
141. P. Hemmerich, V. Massey, G. Veber, Nature, 213, 728 (1967).
142. B. Nijenhuis, N. Berends, Photochem. Photobiol., 6, 491 (1967).
143. B. E. P. Swoboda, V. Massey, J. Biol. Chem., 241, 3409 (1966).
144. H. Kamin, B. S. S. Masters, Q. H. Gibson, C. H. Williams, Fed. Proc., 24, 1164 (1965).
145. V. Massey, в книге The Enzymes, ed. by P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrback, N. Y., 1963, 7, стр. 275.
146. М. Диксон, Э. Уэбб, Ферменты, М., «Мир», 1966, стр. 246, 359.
147. З. В. Пушкарева, Л. Ф. Петрова, В. Ф. Грязев, ХГС, 1965, 438.
148. P. Hemmerich, B. Prijs, H. Erlenmeyer, Helv. chim. acta, 42, 2164 (1959).
149. Н. А. Полякова, Л. С. Тульчинская, Л. Г. Запесочная, В. М. Березовский, ЖОХ, 42, 465 (1972).
150. Л. С. Тульчинская, Н. А. Полякова, В. М. Березовский, Там же, 40, 1859 (1970).
151. Л. С. Тульчинская, Т. А. Жилина, В. Д. Клебанова, Н. А. Полякова, Л. М. Солодкина, В. А. Миронов, В. М. Березовский, Там же, 42, 1135 (1972).
152. J. Sumi, Vitamin, 13, 204 (1957); С. А., 54, 4608 (1960).
153. A. Beauman, J. Am. Chem. Soc., 76, 5633 (1954).
154. А. Катрицкий, Дж. Лаговская, Химия гетероциклических соединений, ИИЛ М., 1963, стр. 49.
155. F. Müller, V. Massey, J. Biol. chem., 244, 4007 (1969).
156. К. Хигаси, Х. Баба, А. Рембаум, Квантовая органическая химия. «Мир», М., 1967.
157. Ж. И. Аксельрод, В. М. Березовский, ЖОХ, 39, 1630 (1969).
158. Ж. И. Аксельрод, В. М. Березовский, Усп. химии, 39, 1337 (1970).
159. D. B. McCormick, J. Heterocycl. Chem., 4, 629 (1967).
160. W. Pfeleiderer, Chem. Ber., 89, 1148 (1956).
161. B. R. Kuhn, H. Rudy, Ber., 67, 1826 (1934).
162. H. Brederick, W. Pfeleiderer, Chem. Ber., 87, 1119 (1954).
163. S. L. Mukherjee, Z. F. Chmielewicz, T. J. Bardas, J. Pharm. Sci., 57, 516 (1968).

164. В. М. Березовский, Н. А. Полякова, Л. С. Тульчинская, ХГС, **1967**, 729.
165. W.-R. Knappe, P. Hemmerich, FEBS Letters, **13**, 293 (1971).
166. M. Brüstlein, W.-R. Knappe, P. Hemmerich, Angew. Chem., **83**, 854 (1971).
167. J. Sumi, Jakugaku Zasshi, **81**, 647, 652 (1961); C. A., **55**, 24760, 24761 (1961).
168. M. Brüstlein, P. Hemmerich, FEBS Letters, **1**, 335 (1968).
169. A. Dekok, C. Veger, Biochim. biophys. acta, **131**, 589 (1967).
170. W. Becker, V. Benthin, E. Eschenhof, E. Pfeil, Biochem. Ztschr., **337**, 156 (1963).
171. Л. С. Тульчинская, В. Д. Клебанова, Н. А. Полякова, Г. Г. Дворянцева, В. М. Березовский, ЖОХ, **40**, 868 (1970).
172. P. Hemmerich, Helv. chim. acta, **41**, 514 (1958).
173. В. М. Березовский, Л. С. Тульчинская, Н. А. Полякова, ЖОХ, **35**, 673 (1965).
174. F. E. King, R. M. Acheson, J. Chem. Soc., **1948**, 1926.
175. Л. Ф. Петрова, З. В. Пушкарева, В. Ф. Грязев, ЖОрХ, **1**, 200 (1965).
176. Vitamine, Chemie und Biochemie, Ed. von J. Fragner, Jena, 1965, T. II, 1384, 1435.
177. D. B. McCormick, C. Arsenis, P. Hemmerich, J. Biol. chem., **238**, 3095 (1963).
178. C. Arsenis, D. B. McCormick, Biochim. biophys. acta, **92**, 440 (1964).
179. C. Jang, C. Arsenis, D. McCormick, J. Nutr., **84**, 167 (1964).
180. F. J. Bullock, O. Jardetzky, J. Organ. Chem., **30**, 2056 (1965).
181. В. М. Березовский, Р. В. Аданяева, Н. Д. Григорьева, ЖОХ, **38**, 1701 (1968).
182. P. Hemmerich, Helv. chim. acta, **43**, 1942 (1960).
183. D. B. McCormick, J. Heterocycl. Chem., **7**, 447 (1970).
184. S. Ghisla, U. Hartmann, P. Hemmerich, Angew. Chem., **82**, 669 (1970).
185. W. H. Walker, T. P. Singer, J. Biol. Chem., **245**, 4224 (1970).
186. T. P. Singer, E. B. Kearney, P. Bernath, Там же, **223**, 599 (1956).
187. T. Y. Wang, C. L. Tsou, J. L. Wang, Sci. Sinica, **5**, 73 (1956).
188. E. B. Kearney, T. P. Singer, Congr. internat. de biochimie, 2 congrès Resumes des communications societe Belge de Biochimie, Liege, Belgium, 1955, стр. 55.
189. E. B. Kearney, T. P. Singer, Biochim. biophys. acta, **17**, 596 (1955).
190. E. B. Kearney, J. Biol. Chem., **235**, 865 (1960).
191. P. Hemmerich, A. Ehrenberg, W. H. Walker, L. E. G. Eriksson, J. Salach, P. Bader, T. P. Singer, FEBS Letters, **3**, 37 (1969).
192. W. H. Walker, J. Salach, M. Gutman, T. P. Singer, I. S. Hyde, A. Ehrenberg, Там же, **5**, 237 (1969).
193. I. Igaue, B. Gomes, K. T. Yasunobu, Biochem. Biophys. Res. Commun., **29**, 562 (1967).
194. V. G. Erwin, L. Hellerman, J. Biol. Chem., **244**, 4230 (1967).
195. E. B. Kearney, J. I. Salach, W. H. Walker, R. Seng, T. P. Singer, Biochem. Biophys. Res. Commun., **42**, 490 (1971).
196. W. H. Walker, E. B. Kearney, R. Seng, T. P. Singer, Там же, **44**, 287 (1971).
197. S. Ghisla, P. Hemmerich, FEBS Letters, **16**, 229 (1971).
198. T. P. Singer, E. B. Kearney, V. Massey, Arch. biochem. biophys., **60**, 255 (1956).
199. T. Y. Wang, C. L. Tsou, J. L. Wang, Sci. Sinica, **14**, 1193 (1965).
200. G. F. Maley, G. W. E. Plaut, J. Biol. Chem., **234**, 641 (1959).
201. G. W. E. Plaut в кн. Pteridin Chemistry, ed. by W. Pfeleiderer, E. C. Taylor, N. Y., 1964, стр. 443.
202. R. A. Harvey, G. W. E. Plaut, J. Biol. Chem., **241**, 2120 (1966).
203. R. M. Cresswell, T. Neilson, H. C. S. Wood, J. Chem. Soc., **1961**, 476.
204. T. Rowan, H. C. S. Wood, Там же, (C), **1968**, 452.
205. T. Paterson, H. C. S. Wood, Там же, (D), **1969**, 290.
206. R. Beach, G. W. E. Plaut, Tetrahedron Letters, **40**, 3489 (1969).
207. R. L. Beach, G. W. E. Plaut, Biochemistry, **9**, 760 (1970).
208. G. W. E. Plaut, R. L. Beach, T. Aogaichi, Там же, **9**, 771 (1970).
209. В. М. Березовский, Химия витаминов. Пищепромиздат, М., 1959, стр. 528.
210. G. E. Treadwell, W. L. Cairus, D. E. Metzler, J. Chromatogr., **35**, 376 (1968).
211. W. M. Moore, C. Baylor, J. Am. Chem. Soc., **91**, 7170 (1969).
212. J. Koziol, Photochem. Photobiol., **5**, 55 (1966).
213. E. Knobloch, Biochim. biophys. acta, **141**, 19 (1967).
214. W. Moore, C. Baylor, J. Am. Chem. Soc., **88**, 5677 (1966).
215. C. S. Jang, D. B. McCormick, Там же, **87**, 5763 (1965).
216. W. L. Cairus, D. E. Metzler, Там же, **93**, 2772 (1971).

217. D. B. McCormick, в книге *Flavins and Flavoproteins*, ed. by K. Jagi, Tokyo, 1968, стр. 154.
218. A. Swallow, *Nature*, **176**, 793 (1955).
219. K. Sakai, Nagoya, *J. Med. Sci.*, **18**, 222 (1956); *C. A.*, **50**, 11828 (1956).
220. H. Erlenmeyer, S. Fallab, P. Hemmerich, Пат. ФРГ 1031310 (1958); *C. A.*, **54**, 14591 (1960).
221. В. М. Березовский, Г. Д. Глебова, ХГС, **1965**, 121.
222. D. A. Wadke, D. E. Guttman, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 1088 (1966); **55**, 1363 (1966).
223. D. E. Guttman, T. E. Platek, Там же, **56**, 1423 (1967).
224. G. Tollin, в книге *Molecular associations in biology*, ed. by B. Pullman, New York, London, Acad. Press, 1968, стр. 393.
225. D. Fleischmann, G. Tollin, *Biochim. biophys. acta*, **94**, 271 (1965).
226. J. F. Pereira, G. Tollin, Там же, **143**, 79 (1967).
227. J. E. Wilson, *Biochemistry*, **5**, 1351 (1966).
228. J. C. M. Tsibris, D. B. McCormick, L. D. Wright, Там же, **4**, 504 (1965).
229. L. D. Wright, D. B. McCormick, *Experientia*, **20**, 501 (1964).
230. H. A. Harbury, K. A. Folly, *Proc. Natl. Acad. Sci. US*, **44**, 663 (1958); **45**, 1708 (1959).
231. M. A. Slifkin, *Nature*, **197**, 275 (1963).
232. С. Е. Бреслер, Н. Н. Васильева, Э. Н. Казбеков, Л. А. Носкин, В. Н. Фомичев, *Молекулярн. биол.*, **4**, 571 (1970).
233. P. Strittmatter, *J. Biol. Chem.*, **236**, 2329 (1961).
234. W. Föry, R. E. MacKenzie, D. B. McCormick, *Heterocyclic chem.*, **5**, 625 (1968).
235. F. E. MacKenzie, W. Föry, D. B. McCormick, *Biochemistry*, **8**, 1839 (1969).
236. W. Föry, R. E. MacKenzie, F. H. Wu, D. B. McCormick, Там же, **9**, 515 (1970).
237. F. H. Wu, R. E. MacKenzie, D. B. McCormick, Там же, **9**, 2219 (1970).
238. P. Hemmerich, F. Müller, A. Ehrenberg, в книге *Oxidases and Related Redox Systems*, ed. by T. E. King, H. S. Mason, M. Morrison, N. Y., 1965, Т. 1, стр. 157.
239. P. Hemmerich, J. Spence, см.<sup>63</sup>, стр. 82.
240. H. Beinert, P. Hemmerich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **18**, 212 (1965).
241. P. Hemmerich, S. Fallab, *Helv. chim. acta*, **41**, 498 (1958).
242. P. Hemmerich, *Experientia*, **16**, 535 (1960).
243. P. Hemmerich, D. V. Der Vartanian, C. Veeger, J. D. W. Van Voorst, *Biochim. biophys. acta*, **77**, 504 (1963).
244. F. Müller, P. Hemmerich, A. Ehrenberg, *Eur. J. Biochem.*, **5**, 158 (1968).
245. F. Müller, L. E. G. Eriksson, A. Ehrenberg, Там же, **12**, 93 (1970).

Всесоюзный научно-исследовательский  
витаминовый институт, Москва